MYKOSEN

Organ für experimentelle und klinische Mykologie

Schriftleiter: Prof. Dr. med. H. Grimmer, Berlin

Band 3
Heft 3
Berlin
1. September
1960

Unter Mitarbeit von:

AJELLO, Chamblee · BLAICH, Wuppertal · BÖHM, München · CARRIÉ, Dortmund · CASTELLANI, Lissabon · CONANT, Durham · FEGELER, Münster · GANS, Frankfurt · GOTTRON, Tübingen, GONZALES OCHOA, Mexiko · GÖTZ, München · GRÜNEBERG, Halle · HÄMEL, Heidelberg HARTUNG, Hannover · ITO, Osaka · JANKE, Wien · JUNG, Neubrandenburg · KADEN, Berlin KALKOFF, Marburg · KIMMIG, Hamburg · KÖNIGSBAUER, Knittelfeld · LINSER, Berlin · MEMMESHEIMER, Essen · MÜLHENS, Hamburg · POLEMANN, Köln · REISS, New York · RIETH, Hamburg-Wandsbek · SCHUERMANN, Bonn · SCHULZE, Freiburg · SEELIGER, Bonn · TELLER, Berlin VANBREUSEGHEM, Antwerpen · VONKENNEL, Köln

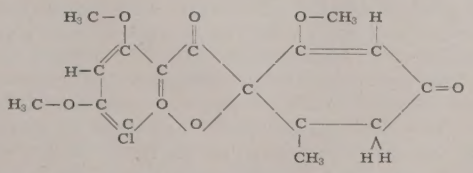
Untersuchungen über die Wirkung von Griseofulvin auf Microsporon canis*)

(1. Mitteilung)

Von H. BÖHME und H. ZIEGLER

Aus der Hautklinik der Charité der Humboldt-Universität zu Berlin
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. med. h. c. Karl Linser)

Oxford, Raistrick und Simonart (1939) ist es zuerst gelungen, das Griseofulvin als Stoffwechselprodukt des Pilzes *Penicillium griseofulvum* (Dierckx) zu isolieren. Den Nachweis der Identität dieses Antibiotikums mit dem „curling factor" (Brian, Curtis und Hemming, 1946) führten Grove und McGowan (1947) sowie Brian et al. (1949). Dem Griseofulvin (GF) wird folgende Struktur zugeschrieben:



*) Herrn Professor Dr. Dr. h. c. Karl Linser zum 65. Geburtstag.

Summenformel: $C_{17}H_{17}O_6Cl$. Es handelt sich also um das „7-Chlor-4,6-dimethoxy-cumaran-3-on-2-spiro-1′-(2′-methoxy-6′-methyl-cyclohex-2′-en-4′-on)". GF ist eine neutrale, farblose, hitzestabile, in Wasser nur wenig lösliche Substanz. Brian (1952) nennt als Maximum der Löslichkeit in der Kälte (20° C) 30 μg in 1 ml Wasser. Die Angaben anderer Autoren weichen z. T. etwas davon ab. Bemerkenswert am GF ist, daß es einen 5-gliedrigen heterozyklischen Ring mit 1 O-Atom enthält. Solche Verbindungen wirken häufig fungizid oder fungistatisch (Grove 1952).

Recht bald erkannte man die Bedeutung des GF als systemisch wirkendes Fungistaticum gegenüber phytopathogenen Pilzen und begann mit intensiven Untersuchungen über die biologische Aktivität des GF (Brian 1949, Aytoun 1956, Napier, Turner und Rhodes 1956, Rhodes, Grosse, McWilliam, Tootill und Dunn 1957).

Riehl (1959) führte das GF als Antimykotikum in die Dermatologie ein. In kurzer Zeit erlangte es wesentliche Bedeutung in der Therapie der weit verbreiteten Dermatomykosen (z. B. Heite 1959, Götz 1959, Linser 1960, Langer und Stäps 1960 u. a. m.).

Über den physiologischen Wirkungsmechanismus, den Ort des Eingreifens des GF in das Stoffwechselgeschehen vor allem phytopathogener Pilze besteht eine von Brian (l. c.) aufgestellte Hypothese. Danach greift GF in ein das Wachstum der Pilze steuerndes Wirkstoffsystem, dem Auxin-System der höheren Pflanzen analog, aber anderer chemischer Konstitution, ein.

Bei Dermatomyzeten ist bislang unseres Wissens der Einfluß des GF auf die Sporenkeimung und das Myzelwachstum sowie die Hyphengestalt beschrieben worden (z. B. Götz; Blanck und Roth 1959, u. a.). Über die GF-Wirkung auf Stoffwechselvorgänge im Zusammenhang mit quantitativen Wachstumsmessungen ist wenig bekannt. Einen Beitrag dazu sollen die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Versuche darstellen. Es wird über den Einfluß des GF auf Wachstum, Zuwachsrate und Phosphathaushalt des Pilzes *Microsporon canis* berichtet.

Ein besonderes Anliegen ist uns dabei die Einführung bislang vorwiegend bei Untersuchungen mit phytopathologischer Fragestellung gut bewährter Arbeitsmethoden für Zwecke der Dermatomykologie.

Weitere Experimente über die quantitative Verwertbarkeit verschiedener Nährsubstrate werden zur Zeit von uns ausgeführt. Arbeiten über Probleme des Stoffwechsels der Dermatomyzeten, über ihren Stickstoff- und Phosphathaushalt und vor allem über die Wirkung des GF auf jene Stoffwechselprozesse werden von uns in Anlehnung an frühere Untersuchungen (Lyr und Ziegler, 1959 a, 1959 b) bearbeitet.

Für alle Versuche verwandten wir einen Stamm von *Microsporon canis*, der im Januar 1960 aus einem Kopfherd eines Patienten (♂, 10 Jahre alt) isoliert worden war. Von den Stammkulturen auf Bierwürzeagar wurden Vermehrungskulturen, um Impfmaterial für die „Zeitserien" zu erhalten, auf einer Malz-Pepton-Lösung bei 25 °C angezogen (2 % Extr. malti pur. sicc. pulv. „Liebe" und 0,1 % Pepton Grünau, f. d. Bakteriologie). Die Nährlösungen der „Zeitserien" wurden ebenso, allerdings ohne Pepton zubereitet. Die Nährlösungen wurden 1×60 Min. im Dampftopf auf 100 °C erhitzt, dann nach dem Abkühlen filtriert, und zu je 50 ml in sterile, mit Zellstoffstopfen verschlossene, 200 ml-Erlenmeyerkolben umgefüllt. Anschließend wurden sie bei 1,2 atü 30 Min. sterilisiert. Die notwendigen Impfstücke (⌀ ca. 2 mm) wurden mittels eines Korkbohrers aus

Myzeldecken ca. 6 Wochen alter Vermehrungskulturen gewonnen. Nach dem Beimpfen wurden die Erlenmeyerkolben während der ersten 15 Kulturtage der einzelnen Versuche täglich kurz geschüttelt. Nach gutem Angehen der Kulturen wurde jeweils am 8. bzw. 12. Tag ein Teil mit in Aceton gelöstem GF begiftet. Die GF-Lösungen waren so eingestellt, daß in 0,5 ml Aceton die jeweils erforderliche Einzeldosis für 50 ml Nährlösung (NL) enthalten war. Kontrollkolben erhielten 0,5 ml reines Aceton. Eine Endkonzentration von 1 % Aceton in 2 %iger Malz-NL hemmte *Microsporon canis* nicht. Die Phosphatbestimmung in Aliquoten der NL wurde wie bei L y r und Z i e g l e r (1959 b) beschrieben ausgeführt. (Molybdänblau-Methode). Weitere Einzelheiten sind, soweit es erforderlich schien, bei der Beschreibung der einzelnen Versuche angegeben.

Bei in-vitro-Untersuchungen über die Wirkung eines Antibioticums oder ähnlicher Verbindungen auf einen pilzlichen Organismus wird in der Regel das zu prüfende Agens von vornherein dem Nährboden zugefügt oder wie beim Lochtest (z. B. A d a m & S t e i t z 1960) unmittelbar nach dem Beimpfen in den Nährboden eingebracht. Der Pilz kommt also schon während des Keimvorganges oder beim Auswachsen der Hyphen aus dem Impfstück, in jedem Fall in der „Lag"-Phase (H a w k e r 1950) mit dem Antibioticum in Berührung. Im menschlichen oder tierischen Organismus trifft der parasitierende Pilz aber erst nach mehr oder weniger üppiger Myzelentwicklung in einem guten Wachszustand auf das im Gewebe vordringende Antibioticum. Wir versuchten daher auch bei der Kultur in-vitro-Bedingungen zu schaffen, die den natürlichen insofern besser entsprechen, als sie dem Pilz vor dem Zusammentreffen mit dem Antibioticum ein ungehemmtes Wachstum gestatten.

Zuerst wurde *Microsporon canis* in den aus der Bakteriologie bekannten, durch schmale Glasleisten in 3 gleichgroße Sektoren geteilten Petrisschalen kultiviert. Als Nährboden diente ein Malz-Pepton-Agar (2 % Malz, 0,3 % Pepton, 2 % Agar). Ihm wurde außerdem GF in zwei verschiedenen Konzentrationen ($0{,}3 \cdot 10^{-5}$ m, $3 \cdot 10^{-5}$ m) zugesetzt. Die Nährböden wurden so in die einzelnen Abteilungen der Petrischalen eingegossen, daß sie zwar vollständig voneinander getrennt waren, zwischen den einzelnen Teilen aber nur eine schmale und flache Glasleiste überstand. Die Kontrollplatten wurden nur mit GF-freiem Nährboden beschickt. Die Versuchsplatten enthielten in einem Drittel den reinen Malz-Pepton-Agar, in den beiden anderen Sektoren den gleichen Agar mit den obengenannten GF-Zusätzen. Beimpft wurde immer nur der GF-freie Nährbodensektor. Von dort aus breitete sich das Myzel über die Glasleisten hinweg nach allen Seiten aus.

Auf den Kontrollplatten wuchs das Myzel ungehindert auf die unbeimpften Nährbodenteile hinüber. (Abb. 1) Auf den Versuchsplatten breitete sich das Myzel auf dem GF-freien Sektor ebenfalls über die ganze Oberfläche aus, wurde aber deutlich gehemmt, sobald die Hyphen über die Glasleisten hinweg in den GF-haltigen Nährboden hineinwuchsen. Bei der schwächeren GF-Konzentration kam es noch zu einer geringen Myzelbildung, die Wachstumsgeschwindigkeit war aber herabgesetzt und das Myzel dichter als auf der Kontrolle. Ein GF-Gehalt von $3 \cdot 10^{-5}$ m unterdrückte das Myzelwachstum fast völlig. Die vom GF-freien Sektor her ständig über die Trennleiste vordringenden Hyphen wurden beim Erreichen dieses Nährbodens sofort abgestoppt und konnten nicht weiter eindringen. (Abb. 2) Geringfügige bakterielle Verunreinigungen, die sich bei dem notwendigen mehrfachen Öffnen der Schale nicht immer vermeiden ließen, beeinträchtigen das Pilzwachstum nicht. Bei direkter Beimpfung hatten sich in der Versuchszeit auf dem Nährboden mit $3 \cdot 10^{-5}$ m GF nur einzelne Hyphen am Impfstück, auf dem mit

$0{,}3 \cdot 10^{-5}$ m GF eine kleine, dichte Kultur entwickelt, die die Glasleiste nicht erreichte.

Microsporon canis kann sich also, auch wenn das Myzel ständig mit einem unbegifteten Nährboden in Verbindung steht, auf einem GF-haltigen Nährboden je nach der Konzentration nur kümmerlich oder gar nicht mehr entwickeln. Die Wachstumsintensität auf dem GF-freien Sektor ist aber trotz der ständigen Berührung des Myzels mit dem GF-haltigen Nährboden nicht merklich herabgesetzt.

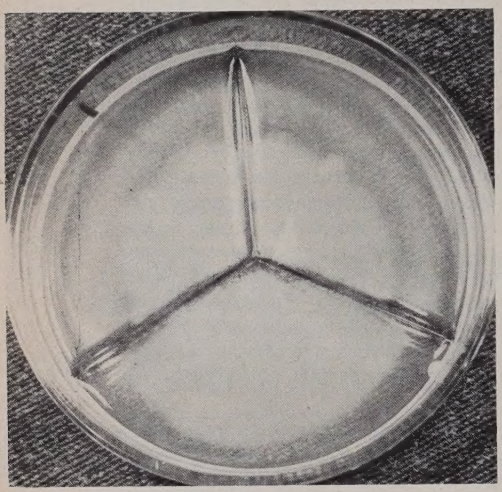


Abb. 1. 15 Tage alte Kultur von M. canis auf reinem Malz-Peton-Agar ohne Zusatz von GF

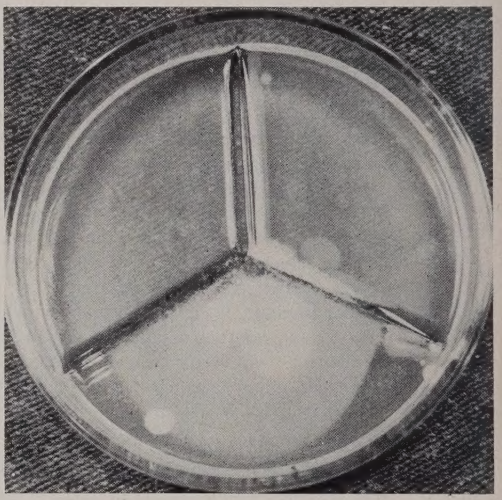


Abb. 2. 15 Tage alte Kultur von M. canis auf Malz-Pepton-Agar. Unten — ohne Zusatz von GF
oben rechts — mit $0{,}3 \times 10^{-5}$ m GF
oben links — mit $3{,}0 \times 10^{-5}$ m GF

Die Hemmwirkung des GF ist demnach wahrscheinlich auch bei *M. canis*, wie es für phytopathogene Pilze bereits nachgewiesen ist (Aytoun 1956), auf einen Bereich der Hyphenspitze beschränkt, der mit dem Antibioticum direkten Kontakt hat. Eine Weiterleitung des GF in den Hyphen scheint bei den human- wie bei den phytopathogenen Pilzen nicht möglich zu sein (Aytoun 1956, Brian 1949).

Während auf den eben beschriebenen Agarplatten immer nur einzelne Hyphen in das GF-Medium hineinwachsen, ist es bei Anwendung der von Sörgel (1951) beschriebenen Kulturmethode möglich, das gesamte, auf einem GF-freien Nährboden entwickelte Myzel in eine GF-haltige Nährlösung zu bringen. Das Verfahren bietet außerdem die Möglichkeit, das Myzel nach beliebig langer Einwirkung des Antibioticums leicht auf einen GF-freien Nährboden zurückzuversetzen.

Die Pilze werden dabei auf einem Rundfilter kultiviert, das einer mit Nährlösung gefüllten Schale aufliegt und ganz mit Nährlösung durchtränkt ist. Das Filtrierpapier dient dabei nur als Trägersubstanz, Nährstoffe erhält der Pilz aus der darrunter befindlichen Flüssigkeit. Das Pilzmyzel entwickelt sich nicht nur auf der Oberfläche, sondern durchwächst das Papier und breitet sich auch submers in der Flüssigkeit aus. Die eigentliche Kulturschale mit der Nährlösung und dem

Frei

von

Fußpilzen

durch

novex®

Salbe

Lösung

Puder

boehringer

C. F. BOEHRINGER & SOEHNE GMBH. MANNHEIM

0264

Antihydral®

gegen Hyperhidrosis
13% Hexamethylentetramin
Tube mit ca. 70 g

Antihydral „M"®

gegen Dermatomykosen und Hyperhidrosis
10% Schwefel + 10% Hexamethylentetramin
Tube mit ca. 70 g

Information

Antihydral Milde Gerbung der Haut durch gesteuerte Formalinabspaltung. Desinfizierende Wirkung und damit rasche Desodorierung. Lokale Anwendung, keine Allgemeinwirkungen.

Antihydral „M" Spezifischer antimykotischer Effekt, gleichzeitig Beseitigung der für Mykosen ursächlich bedeutungsvollen übermäßigen Schweißabsonderung.

ARZNEIMITTEL **ROBUGEN** ESSLINGEN/N

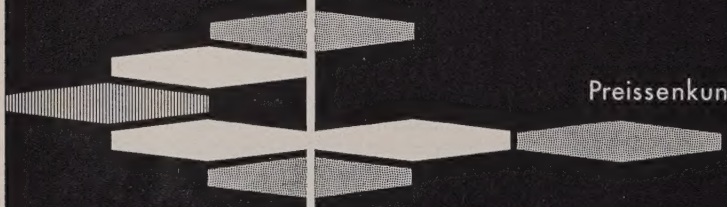
---

gegen
Ekzeme

Munitren®

0,5%ige, fettfreie
Hydrocortisonsalbe
mit Mehrfach-Effekt
Antiekzematös
Antimykotisch
Antibakteriell

Preissenkung!
5g DM 2.20
20g DM 6.65
o.U. lt. A.T.



ROBUGEN GMBH PHARMAZEUTISCHE FABRIK ESSLINGEN/N
ROBUGEN

435

Filtrierpapier steht, um Verunreinigungen zu verhüten und eine zu starke Verdunstung der Nährlösung zu vermeiden, in einer größeren, geschlossenen Petrischale (Abb. 3). Die beiden Schalen werden zweckmäßig zusammen in einem Heißluftsterilisator, die Rundfilter getrennt davon im Autoklaven sterilisiert. Die kleinen Schalen werden unter Beachtung der üblichen Kautelen bis an den Rand mit Nährlösung gefüllt und mit den sterilen Rundfiltern bedeckt. Die Filter sollen einen etwas größeren Durchmesser als die Kulturschalen aufweisen, damit sie dem Schalenrand fest aufliegen. Die Beimpfung geschieht am besten mit kleinen Myzelstückchen. Ein unmittelbarer Kontakt zwischen Pilzmyzel und Nährflüssigkeit ist nur gewährleistet, wenn beim Auflegen der Papierscheiben die Bildung von Luftblasen vermieden wird.

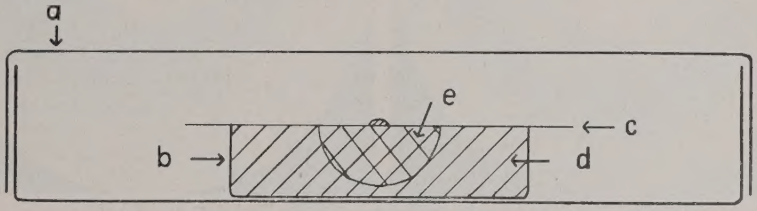


Abb. 3. Schematische Darstellung der Kulturmethode nach Sörgel
a) große Petrischale, b) eigentliche Kulturschale, c) Rundfilter, d) Nährlösung, e) vom Impfstück aus halbkugelig in die Nährlösung gewachsenes Myzel

Wir verwendeten Petrischalen von 15 cm Durchmesser und 3 cm Höhe. Als Kulturschalen dienten die Unterteile von Petrischalen mit 6 cm Durchmesser. Unterschiede im Volumen der Kulturschalen wurden mit Hilfe von Glasperlen ausgeglichen. Die Rundfilter hatten einen Durchmesser von 8 cm. Mit einem Bleistift wurden auf ihnen Markierungen angebracht, an Hand derer die Durchmesser der Myzelien bestimmt werden konnten.

M. canis wurde zunächst 5 Tage lang auf einer Malz-Pepton-Lösung der vorngenannten Konzentration ohne GF-Zusatz angezogen. Die Kulturen hatten nach dieser Zeit auf der Oberfläche einen Durchmesser von 15—16 mm und auch submers entsprechend Myzel gebildet. Von diesen Kulturen wurden die Rundfilter samt dem anhaftenden Myzel mit einer sterilen Pinzette vorsichtig abgehoben und auf entsprechende Schalen mit GF-haltiger Nährlösung gebracht. Damit kam also das gesamte Submersmyzel in unmittelbaren Kontakt mit der GF-haltigen Flüssigkeit. Zur Kontrolle wurden einige Kulturen von reiner Malz-Pepton-Lösung wieder auf die gleiche Lösung verpflanzt. Sie entwickelten sich nach einer geringfügigen, durch das Verpflanzen hervorgerufenen Unterbrechung, gleichmäßig weiter, während die Wachstumsintensität auf den GF-haltigen Medien deutlich herabgesetzt wurde (Abb. 4). Nach 5tägigem Verweilen auf der $0{,}3 \cdot 10^{-5}$ m GF-Lösung war auch in diesem Versuch noch eine geringe Zunahme der Kulturdurchmesser festzustellen. Auf der 10fach stärkeren Konzentration zeigte das Myzel in der gleichen Zeit keinen meßbaren Zuwachs (Tab. 1).

Am 10. Versuchstag wurden einige Kulturen auf reine Malz-Pepton-Lösung zurückverpflanzt. Dort wuchsen auch die auf GF-haltigen Nährböden gehemmten Kulturen mit normal erscheinendem Myzel weiter (s. Tab. 1 u. Abb. 5).

Direkt auf die GF-Nährböden geimpft, bildete der Pilz wieder nur sehr kümmerliches Myzel, das sich aber nach dem Verpflanzen auf reine Malz-Pepton-Lösung kräftig weiterentwickelte.

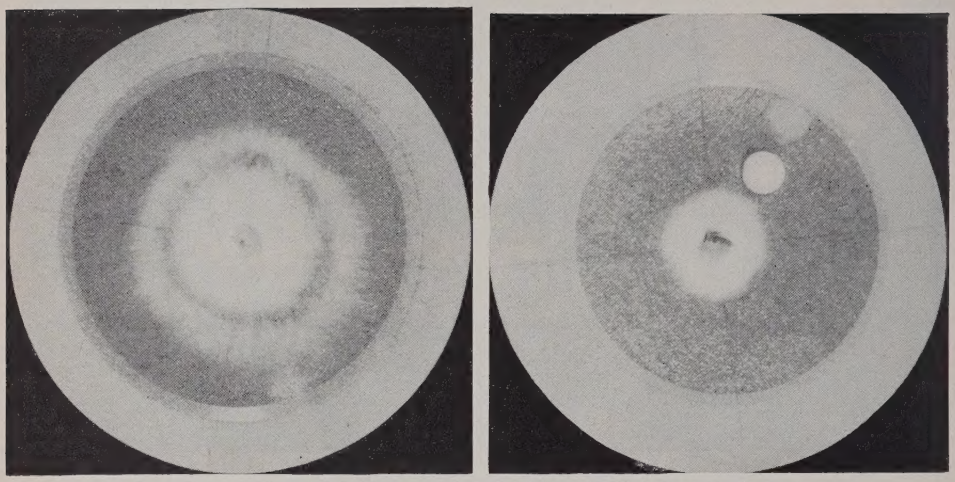


Abb. 4. 10 Tage alte Kulturen von M. canis. Nach 5tägigem Wachstum auf Malz-Pepton-Lsg. verpflanzt
a) auf Malz-Pepton-Lsg., b) auf Malz-Pepton-Lsg. mit 0,3 × 10—5 m GF

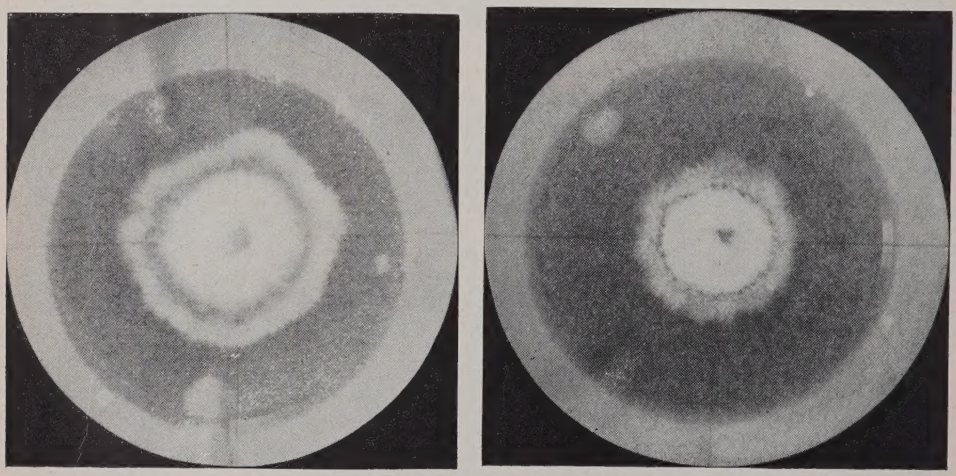


Abb. 5. 15 Tage alte Kulturen von M. canis.
a) nach 5 Tagen von MP-Lsg. verpflanzt auf MP + 0,3 × 10—5 m GF und nach 10 Tagen rückverpflanzt auf MP
b) nach 5 Tagen von MP-Lsg. verpflanzt auf MP + 3,0 × 10—5 m GF und nach 10 Tagen rückverpflanzt auf MP

GF übt also auch auf *M. canis* nur eine fungistatische Wirkung aus. Brian (1949) und Aytoun (1956) berichten von ähnlichen Ergebnissen bei phytopathogenen Pilzen. Blank & Roth (1959) und Götz (1959) erwähnen die gleiche Erscheinung von anderen Dermatomyceten.

Tabelle 1

Durchmesser der Kulturen von *M. canis* auf Malz-Pepton (MP)-Lösung, nach dem Verpflanzen auf GF-haltige MP-Lsg. und nach dem Rückverpflanzen auf MP-Lsg. (in mm).

Nährmedien/Versuchstage	5	10	15
MP-Lösung	16	30	46
verpflanzt auf			
MP-Lsg.		30	43
MP-Lsg. / 0,3 · 10^{-5} m GF		18	20
MP-Lsg. / 3,0 · 10^{-5} m GF		16	16
rückverpflanzt auf MP-Lsg. von			
MP-Lsg.			51
MP-Lsg. / 0,3 · 10^{-5} m GF			40
MP-Lsg. / 3,0 · 10^{-5} m GF			28

Um quantitative Aussagen über das Wachstum und den Phosphatstoffwechsel sowie über die Beeinflussung dieser Prozesse durch GF machen zu können, wurden „Zeitserien" angesetzt. Am Tag 1, 5, 10, 15, 19, 25 und 33 wurde zur Bestimmung der Wachstumsintensität und des Verlaufes der Wachstumskurven je Variante das Myzel von 20 Kolben gewonnen, in einen Büchner-Trichter mit einem zuvor gewogenen, aschefreien Rundfilter gegeben, nachgewaschen, bei 102 °C getrocknet und die Myzel-Trockensubstanz (TS) durch Wägung bestimmt. Es handelt sich also bei den TS-Angaben um repräsentative Durchschnittswerte.

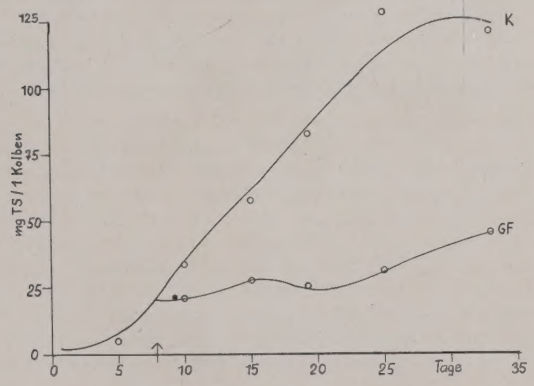


Abb. 6: Wirkung von Griseofulvin (GF) auf den zeitlichen Verlauf der Myzel-Trockensubstanz-Bildung durch M. c a n i s.
Kontrolle : o——————o K
GF-Variante : o——————o GF (Endkonzentration : 3 · 10^{-5} m)
Tag der Begiftung: ↑
Nährlösung (NL) : 2 % Malz, Versuchstemperatur : ca. 21 °C

In Abb. 6 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt. Im ersten Drittel der gradlinigen Wachstumsphase war ein Teil der Kulturen mit 0,5 ml GF-Lösung begiftet worden, so daß eine Endkonzentration von $3 \cdot 10^{-5}$ m (ca. 10^{-5}%) GF resultierte. Nach Wood und Smith (1950) liegt in dieser Phase der Wachstumskurve die günstigste Angriffszeit für Gifte. Nach kurzer Inkubationszeit hörte das Wachstum des relativ jungen Myzels auf. 25 Tage nach der Begiftung war jedoch wieder eine TS-Zunahme zu erkennen. Der Pilz muß also in der Lage sein, langsam GF zu entgiften. In der lebenden höheren Pflanze wird GF in wenigen Tagen entgiftet (Brian 1952).

Zusammen mit der „Myzel-Ernte" wurde das Volumen der NL genau bestimmt. Das durchschnittliche NL-Volumen je Kolben nimmt während der Versuchsdauer ständig ab, vor allem durch Evaporation und zum geringeren Teil auch durch Einbau der NL in das wachsende Myzel und durch die sich ständig vergrößernde Transpirationsfläche. In Tabelle 2 sind diese Werte zusammengestellt.

Tabelle 2
Durchschnittswerte der NL-Volumina in ml je Kolben

Versuchstag	1	5	10	15	19	25	33
Kontrolle	45	44	44	42	41	39	37
Griseofulvin $3 \cdot 10^{-5}$ m	45	44	44	44	42	40	39

Die Volumenabnahme beider Versuchsvarianten ist gleichgerichtet, bei der GF-Variante ist die Abnahme etwas verzögert.

Wir berechneten aus den ∅-NL-Volumina und dem P-Gehalt je ml NL die potentiell je 1 Kolben für 1 Myzel vorhandene P-Menge und die P-Aufnahme der Myzelien. In Abb. 7 ist der P-Gehalt der Nährlösung (NL) und korrespondierend dazu der P-Gehalt des Myzels (MY) graphisch dargestellt. In Tabelle 3 sind ergänzend dazu die prozentischen P-Werte zusammengefaßt.

Tabelle 3
P-Gehalt des Myzels in % der Myzel-TS (K = Kontrolle, GF = mit GF begiftete Variante).

Versuchstag	K	GF
1	0,00	0,00
5	3,80	3,80
10	1,11	1,09
15	0,95	0,65
19	0,74	1,04
25	0,54	1,03
33	0,62	0,93

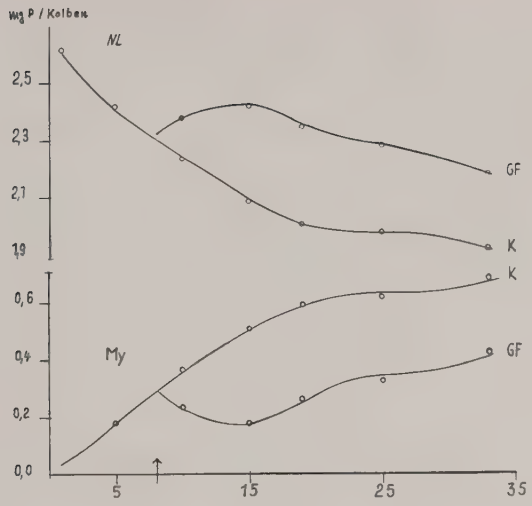


Abb. 7. Wirkung von GF auf den zeitlichen Verlauf der P-Aufnahme durch M. c a n i s. P-Gehalt der NL und P-Gehalt des Mycels
Kontrolle : o———o K
GF-Variante : o———o GF (Endkonzentration : $3 \cdot 10^{-5}$ m)
Tag der Begiftung: ↑
NL : 2 % Malz, Versuchstemperatur : ca. 21 °C

Der absolute P-Gehalt des Myzels nimmt während des Versuches ständig zu, besonders in den ersten 18 Tagen der Kultur. Nach Begiftung mit GF hört die P-Aufnahme auf, es kommt sogar zu einer P-Ausscheidung. Wie aus der Tabelle 3 zu entnehmen ist, geben die prozentischen Werte allein kein übersichtliches Bild. Erst nach der P-Bilanz-Aufstellung kann man die Situation des P-Haushaltes beurteilen. Das Ansteigen der P-Prozente der GF-Variante vom 19. Tage an deutet darauf hin, daß sich der Pilz vom Begiftungsschock zu erholen beginnt. Eine meßbare TS-Produktion ist erst 6 Tage später festzustellen.

Mittels weiterer Versuchsreihen sollte der Einfluß verschiedener GF-Konzentrationen auf die Wachstumsintensität, den Verlauf der Wachstumskurven und den P-Stoffwechsel bestimmt werden. Dazu wurde *M. canis* in NL (1 % Malz) kultiviert und an den Tagen 1, 8, 14, 19, 26 und 33, wie bereits beschrieben, aufbereitet. An Abb. 8 sind die Ergebnisse der TS-Bestimmungen graphisch dargestellt. Wie daraus zu ersehen ist, befand sich der Pilz bereits im zweiten Drittel der geradlinigen Wachstumsphase, als ein Teil der Kulturen mit GF-Lösung begiftet wurde. Nach kurzer Inkubationszeit kam es wiederum zu einer Hemmung der TS-Zunahme und die höheren GF-Konzentrationen führten sogar zu einer TS-Abnahme. 21 Tage nach der Begiftung streben lediglich die mit niedrigen GF-Dosen behandelten Varianten dem Kontroll-TS-Wert zu, ohne ihn jedoch zu erreichen.

Über den P-Gehalt der NL und seine Veränderungen durch den wachsenden Pilz sowie den GF-Einfluß darauf informiert Abb. 9. Die Begiftung mit GF führte nach kurzer Anlaufzeit zu einer Unterbrechung der P-Aufnahme und zu einer teilweise anhaltenden P-Ausscheidung. Lediglich bei der GF-Dosis

0.3 · 10—5 m kam es zu einer kurzfristigen Steigerung der P-Aufnahme, die aber am 8. Tage nach der Begiftung wie bei allen anderen GF-Varianten in eine P-Ausscheidung umgeschlagen war.

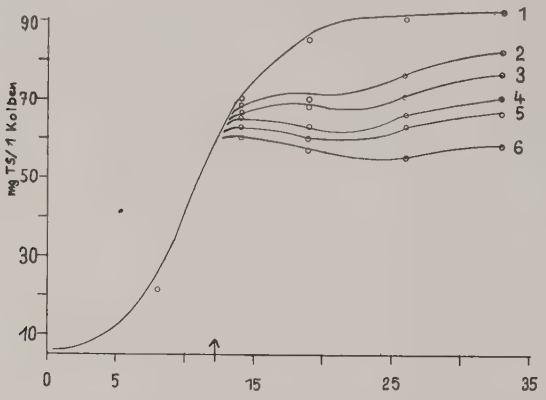


Abb. 8. Wirkung gestaffelter GF-Dosen auf den zeitlichen Verlauf der Myzeltrockensubstanz-Bildung durch M. canis.

1. Kontrolle : o———o 1
2. GF 0,15 · 10—5 m (Endkonz.) : o———o 2
3. GF 0,30 · 10—5 m (Endkonz.) : o———o 3
4. GF 1,50 · 10—5 m (Endkonz.) : o———o 4
5. GF 3,00 · 10—5 m (Endkonz.) : o———o 5
6. GF 15,00 · 10—5 m (Endkonz.) : o———o 6

Tag der Begiftung: ↑
NL : 1 % Malz, Versuchstemperatur : ca. 24 °C.

Die P-Bilanzen bestimmten wir aus den P-Werten der NL, den Volumina-Veränderungen der NL und den TS-Werten. In Tabelle 4 sind die Volumina-Veränderungen der NL (Durchschnittswerte von 10 Kolben) und in Tabelle 5 die prozentischen P-Werte zusammengestellt.

Tabelle 4

Durchschnittswerte der NL-Volumina in ml je 1 Kolben

Versuchstag		1	8	14	19	26	33
unbeimpfte Kolben		45	43	42	39	38	35
ohne Griseofulvin		45	43	41	38	35	32
0,15	10—5 m Griseofulvin	45	43	41	39	37	34
0,30		45	43	42	39	37	34
1,50		45	43	42	40	38	34
3,00		45	43	42	40	39	35
15,00		45	43	42	40	39	36

Tabelle 5
P in % der TS des Myzels

Versuchstag		1	8	14	19	26	33
ohne Griseofulvin		—	0,78	0,44	0,36	0,49	0,53
0,15	10^{-5} m Griseofulvin	—	0,78	0,48	0,27	0,49	0,59
0,30		—	0,78	0,60	0,31	0,50	0,58
1,50		—	0,78	0,43	0,15	0,32	0,49
3,00		—	0,78	0,40	0,16	0,14	0,33
15,00		—	0,78	0,35	0,17	0,23	0,31

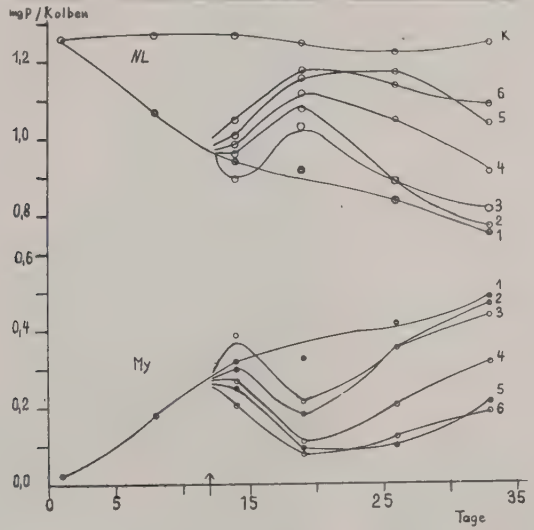


Abb. 9. Wirkung gestaffelter GF-Dosen auf den zeitlichen Verlauf der P-Aufnahme durch M. canis. P-Gehalt der NL und P-Gehalt des Mycels

K : unbeimpfte Kontrolle : o——————o K
1. Kontrolle : o——————o 1
2. GF 0,15 · 10^{-5} m (Endkonz.) : o——————o 2
3. GF 0,30 · 10^{-5} m (Endkonz.) : o——————o 3
4. GF 1,50 · 10^{-5} m (Endkonz.) : o——————o 4
5. GF 3,00 · 10^{-5} m (Endkonz.) : o——————o 5
6. GF 15,00 · 10^{-5} m (Endkonz.) : o——————o 6

Tag der Begiftung:
NL : 1 % Malz, Versuchstemperatur : ca. 24 °C.

Abhängig von der GF-Dosis stellt der Pilz, beginnend in der Inkubationszeit (½ bis 2 Tage), das Wachstum ein, ebenfalls nimmt er kein Phosphat mehr aus der umgebenden NL auf. Höhere GF-Dosen verursachen sogar eine mehrere Tage anhaltende P-Ausscheidung. Bekanntlich ist der Phosphathaushalt für die energetische Situation der Zelle von merklicher Bedeutung. Er nimmt im Stoffwechselgeschehen eine zentrale Stellung ein.

Ähnlich wie Microsporon canis nach GF-Begiftung verhielt sich bei Untersuchungen über den Stoffwechsel höherer Pilze *Trametes versicolor* (L.) Pilat nach Begiftung mit Pentachlorphenol (Lyr und Ziegler 1959 b). Andererseits

konnte Brian (1949) nachweisen, daß *Polystictus (Trametes) versicolor* durch GF ($3 \cdot 10^{-5}$ m) gehemmt wird. GF führt bei *Botrytis allii* zu den hinlänglich bekannten morphologischen Veränderungen. Hiermit sind die bei *Aspergillus niger* durch Pentachlorphenol hervorgerufenen „Gigas-Zellen" vergleichbar (Armitage und Verdcourt, 1948). Pentachlorphenol ($2 \cdot 10^{-4}$ m) hemmt bekanntlich die oxydative Phosphorylierung, führt zu P-Ausscheidungen, zur Abnahme der Myzel-TS, zu Stickstoff-Ausscheidung und zur Hemmung der Zuckerresorption. Bei der Ähnlichkeit der Folgeerscheinungen nach Pentachlorphenol- bzw. GF-Begiftung liegt es nahe zu vermuten, daß GF nicht nur in den Chitin-Stoffwechsel, sondern auch als „Entkoppler" in den P-Haushalt eingreift und andere wichtige physiologische Prozesse störend beeinflußt. Dagegen spricht auch nicht, daß Brian (l. c.) keine Hemmung der O_2-Aufnahme nach Begiftung mit GF fand, wenn man berücksichtigt, daß Enzymgifte wie p-Nitro- und p-Dinitro-Phenol (Ziegler 1957, Literatur dort zusammengestellt), die die Atmungskettenphosphorylierung entkoppeln und ATP benötigende Synthesen hemmen, in einem bestimmten Konzentrationsbereich sogar zu einer Stimulierung der Respiration führen. Auch die Ergebnisse anderer Autoren deuten darauf hin, daß GF an verschiedenen Stellen des Stoffwechsels angreifen kann. So hemmt GF ($1{,}5—7{,}5 \cdot 10^{-5}$ m) z. B. das Keimwurzelwachstum bei Dikotylen merklich (Brian 1949). Auch ist nach den Untersuchungen von Heymer (1960) damit zu rechnen, daß GF den normalen Verlauf der Mitose stören kann. Um zu einem abschließenden Urteil über die GF-Wirkung im lebenden Organismus zu kommen, ist jedoch noch eine Reihe weiterer Untersuchungen notwendig.

1. Die Wirkung von Griseofulvin (GF) in Konzentrationen von 0,15 bis $15{,}0 \cdot 10^{-5}$ m ist auf das Wachstum und den Phosphatstoffwechsel des Pilzes *Microsporon canis* untersucht worden.

2. GF hemmte im Bereich der genannten Konzentrationen das Hyphenwachstum, auch wenn sich dabei ein Teil der Myzeldecke auf GF-freiem Substrat befindet.

3. Die Hemmung ließ sich rückgängig machen, sobald man die Kulturen wieder auf GF-freies Medium übertrug.

4. Die Veränderungen der Myzeltrockensubstanz-Produktion und des Phosphatgehaltes der Nährlösungen sind über einen Zeitraum von jeweils 33 Tagen verfolgt worden.

5. Mit GF begiftete Pilzkulturen stellen, abhängig von der GF-Dosis, im Laufe einer kurzen Inkubationszeit ($^1/_2$ bis 2 Tage) ihr Wachstum ein.

6. Unabhängig von der „Wachstumsphase" führt eine Begiftung mit GF stets zu einem Wachstumsstop.

7. Nach Begiftung mit GF, abhängig von der Dosis, nimmt der Pilz nach Ablauf der Inkubationszeit kein Phosphat mehr aus der Nährlösung auf. Höhere GF-Dosen führen sogar zu einer P-Ausscheidung des Pilzes in das umgebende Substrat.

8. Daraus wird geschlossen, daß GF in einem gewissen Konzentrationsbereich auch die oxydative Phosphorylierung hemmen kann.

9. Aus den Zuwachskurven ist zu entnehmen, daß der Pilz in der Lage ist, Griseofulvin langsam zu entgiften.

Für verständnisvolle technische Assistenz danken wir Frl. I. Klinke und Frau H. Richter.

Indikationen:
Fuss- und Handmykosen (Epidermophyton rubrum, Epidermophyton interdigitale)
Ekzema marginatum (Epidermophyton inguinale)
Oberflächliche Trichophytien und Mikrosporien (Herpes circinatus)
Erythrasma
Nagelmykosen

Im Gegensatz zur bisher gebräuchlichen freien Undecylensäure dringt der neue **lipoidlösliche Undecylensäurephenolester** im Ederphyn rasch in die Keratinschicht der Haut. Diese gezielte Tiefenwirkung fördert den fungiziden Prozess und vermindert das Auftreten von Rezidiven. Die Esterverbindung der Undecylensäure ist zudem praktisch geruchlos.

Ederphyn

intradermal wirksames Antimykotikum

Vorzüge:
Gutes Eindringen in die Hornschicht.
Rasch einsetzende juckreizstillende Wirkung.
Angenehm, da geruchlos und nicht fleckend.
Gut verträglich auch für empfindliche Haut.

Galactina GmbH
Schulstraße 3, Frankfurt/M

Bei Epidermophytien

Ein zuverlässiges Antimykoticum

Cuprizinin

völlig reizlos, ungiftig, sauber

- PASTE
- FLÜSSIG
- PUDER
- MULL

DR. DEGEN & KUTH · DÜREN RHLD.

Sabouraud-Maltose-Agar, Littmann-Oxgall-Agar, Mycosel-Agar, Mycophil-Broth, Chlamydospore-Agar, Liu-Newton-Agar, GN-Broth etc., Tween-80

sowie alle Trockennährmedien der Weltliteratur der DIFCO und BBL-Laboratories.

Institute erhalten das DIFCO-Manual (350 Seiten) oder BBL-Manual (244 Seiten) unentgeltlich.

• •

Otto Nordwald

Laboratorium für Fermente und Organsubstanzen

HAMBURG-ALTONA

Waterloostraße 48

MYKOZEM

CHEMOSAN-UNION A.G. WIEN

Antimykotikum

- **fungizid**
- **bakterizid**
- **juckreizstillend**

Salbe in Tuben mit 10 g

Vertretung:

MAINLAND

Pharmazeutische Fabrik G. m. b. H.

Frankfurt am Main

MYKOSEX

SALBE **PUDER** **FLÜSSIG**

BEI ONYCHO- UND BLASTOMYKOSEN DERMATOMYKOSEN MYKOTISCHEN EKZEMEN EPIDERMOPHYTIEN MIKROSPORIE TRICHOPHYTIEN ERYTHRASMA MISCHINFEKTIONEN

DAS ABSOLUT ZUVERLÄSSIGE ANTIMYCOTICUM

BERNSDORF K.-G. **TUTZING-OBERBAYERN**

Bitte, beachten Sie unser **DERMAREX WAS** die alkalifreie, außerordentlich milde, flüssige Seife, auf Basis waschaktiver Stoffe mit fungizid. u. bakterizid. Wirkstoffen, die ideale »Ekzemwäsche« selbst in desolaten Fällen, auch für besonders empfindliche, wunde, trockene und spröde Haut das überzeugende Waschmittel!

Literatur

1. Adam, W. und K. Stveitz: Angew. Med. 14, 144—147 (1960). — 2. Armitage, F. D. und B. Verdcourt: Research 1, 236—237 (1948). — 3. Aytoun, R. S. C.: Ann. Bot. N. S. 20, 297—305 (1956). — 4. Blank, H. und F. J. Roth jr.: Arch. Derm. Syph. (Chicago) 79, 259—266 (1959). — 5. Brian, P. W., P. J. Curtis und H. G. Hemming: Trans. Brit. Myc. Soc. 29, 173—189 (1946). — 6. Brian, P. W.: Ann. Bot. N. S. 13, 59—77 (1949). — 7. Brian, P. W.: Ann. appl. Biol. 39, 434—438 (1952).. — 8. Götz, H.: Hautarzt 10, 539—542 (1959). — 9. Grove, J. F. und J. C. McGowan: Nature (London) 160, 574 (1947). — 10. Grove, J. F.: Biochem. J. 50. 648—666 (1952) zit. n. Horsfall. — 11. Hawker, L. E.: Physiology of Fungi Univ. Press London (1950). — 12. Heite, H. J. und D. Janke: Dtsch. med. Wschr. 84, 2202—2206 (1959). — 13. Heymer, T.: Dtsch. med. Wschr. 85, 438—442 (1960). — 14. Horsfall, J. G.: Principles of fungicidal action. Waltham, Mass. USA (1956). — 15. Langer, H. und R. Stäps: Derm. Wschr. im Druck (1960). — 16. Linser, K.: Dtsch. Gesdh.wesen 15, 774—777 (1960). — 17. Lyr, H. und H. Ziegler: Phytopath. Zeitsch. 35, 173—200 (1959). — 18. Lyr, H. und H. Ziegler: Phytopath. Zeitsch. 36, 146—162 (1959). — Napier, E. J., D. I. Turner und A. Rhodes: Ann. Bot. N. S. 20, 461—466 (1956). — 20. Oxford, A. E., H. Raistrick und P. Simonart: Biochem. J. 33, 240—248 (1939). — 21. Riehl, G.: Hautarzt 10, 136 (1959). — 22. Rhodes, A., R. Crosse, R. McWilliam, J. P. R. Tootill und A. T. Dunn: Ann. appl. Biol. 45, 215—226 (1957). — 23. Sörgel, G.: Der Züchter 21, 322—324 (1951). — 24. Wood, W. B. und M. R. Smith: J. exper. Med. 103, 487 (1956). — 25. Ziegler, H.: Biol. Zentralbl. 76, 43—69 (1957).

Anschr. d. Verf.: Dr. Hannelore Böhme und Dr. Helmut Ziegler Berlin N 4, Hautklinik der Charité, Schumannstr. 21.

Spaltung von Äskulin durch Sproßpilze, unter besonderer Berücksichtigung der Gattung Cryptococcus*) **)

Von H. P. R. SEELIGER

Aus dem Hygiene-Institut der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn/Rh. (Direktor: Prof. Dr. H. Habs)

Im Zuge von Bemühungen, die Verwertbarkeit bakteriologischer Untersuchungsmethoden bei der Diagnostik von Sproßpilzen, insbesondere solchen aus menschlichem Untersuchungsmaterial, zu prüfen (9) (10), ergab sich, daß das im bakteriologischen Laboratorium häufig benutzte β-Glykosid Äskulin von Sproßpilzen in unterschiedlicher Weise angegriffen wird.

Soweit aus der einschlägigen Literatur zu ersehen ist, wurde die Äskulinspaltung erstmalig von Stelling-Dekker (12) als Hilfsmittel der Hefe-Diagnostik bei der Abgrenzung der sporenbildenden Gattungen *Pichia* und *Hansenula* von anderen Arten benutzt. Lodder (6) erwähnt die Äskulinprobe 1934 noch nicht. Nachdem aber Castellani 1937 die Arbutinprobe in die Hefediagnostik eingeführt hatte (4), wurde die Spaltung dieses Glykosids von Diddens und Lodder (1942) sowie von Lodder und Kreeger-Van Rij (1952) als zusätzliches Kriterium in die Diagnostik von Sproßpilzen übernommen und seither bei der Abgrenzung und Beschreibung neuer Arten meist berücksichtigt. Dem Arbutin wurde der Vorzug vor dem Äskulin gegeben, weil es leichter erhältlich und billiger war. Durch ein Objektglas-Kulturverfahren wurde die Arbutinprobe in jüngster Zeit noch empfindlicher gestaltet (Slooff, briefl. Mitteilung 1959).

Das zunehmende Interesse, das dem Vorhandensein von β-Glykosidasen bei Sproßpilzen entgegengebracht wird, spiegelt sich in einem ausführlichen Bericht von Barnett, Ingram und Swain (1) (2) wieder, die neben dem Arbutin auch die Spaltung von Äskulin, Salicin und Cellobiose an einer großen Zahl von Hefen prüften.

Da sich, mit Ausnahme einiger referierender Darstellungen, im deutschen Schrifttum nur wenige Hinweise auf die Arbutinspaltung und keine Mitteilungen über den Wert der Äskulinprobe in der Sproßpilz-Diagnostik finden, erscheint es gerechtfertigt, die eigenen Untersuchungsergebnisse auszugsweise mitzuteilen.

*) Durchgeführt mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft.
**) Es ist mir eine angenehme Pflicht, der medizinischtechnischen Assistentin Fräulein I. Hübner für ihre stete Hilfe bei der Durchführung der Versuche zu danken.

Hierfür ist auch der Umstand maßgebend, daß im bakteriologischen Laboratorium, dem in steigendem Maße auch die Diagnostik von Sproßpilzen übertragen wird, das Arbutin praktisch keine Rolle spielt, während die Äskulinprobe bei der Differenzierung vieler Bakterienarten üblich und deshalb gut bekannt ist. Nicht zuletzt zeigte sich, daß die Äskulinprobe bei der raschen Erkennung pathogener Cryptococcen, die an anderer Stelle eingehend abgehandelt wurde (11), eine besondere Bedeutung besitzt.

Material und Methodik

Stämme:

Alle Untersuchungen wurden mit einwandfrei bestimmten Sproßpilzstämmen — zum Teil Sammlungsstämmen, zum Teil frisch vom Menschen isolierten Kulturen — der Pilzkulturensammlung des Hygiene-Instituts Bonn durchgeführt.

Arbutinspaltung:

Zum Nachweis der Arbutinspaltung diente das von L o d d e r und K r e e g e r - V a n R i j (7) angegebene Verfahren, auf das hier verwiesen wird.

Äskulinspaltung:

Nach längeren Vorversuchen unter Verwendung flüssiger, halbflüssiger und fester Nährböden mit und ohne Zusatz von Eisenzitrat wurde folgendes *Medium* für den Nachweis der Äskulinspaltung als geeignet gefunden:

Pepton	10,0 g
Eisenammoniumzitrat	1,0 g
Äskulin	1,0 g
Agar	20,0 g
Aqua dest.	1000,0 ml
Wickerham's Vitaminlösung pH 7,4	0,5 ml

Herstellung: Nach Auflösen des Peptons, Äskulins und Eisenammoniumzitrats in Aqua dest. wird Agar zugegeben und das Ganze im siedenden Wasserbad verflüssigt. Anschließend klar filtrieren und pH auf 7,4 einstellen. Zur Sterilisation wird das Medium 15 Min. bei 1,1 atü erhitzt. Danach wird dem kochend heißen Substrat die Vitaminlösung (seitzfiltriert) zugesetzt und darin aufgelöst. Abfüllen in Mengen von 5 ml in Reagenzröhrchen und in Schräglage erstarren lassen.

Wickerham's Vitaminlösung hat folgende Zusammensetzung (13):

Biotin	2 microgramm
Calziumpanthotenat	400 microgramm
Inositol	2000 microgramm
Niacin	400 microgramm
Para-aminobenzoesäure	200 microgramm
Pyridoxin	400 microgramm
Thiamin	400 microgramm
Riboflavin	200 microgramm
Aqua dest.	10 ml

Zur *Beimpfung* wird eine Öse des Kulturmaterials auf der Schrägfläche ausgestrichen.

Sämtliche Pilzkulturen wurden bei 30° C 10 Tage lang bebrütet und täglich kontrolliert. Bei fehlender Äskulinspaltung bleibt der Nährboden unverändert, während es beim positiven Ausfall der Probe zu einer deutlichen *Schwärzung* der Schrägfläche und später auch des Stiches kommt. Dabei verschwindet die allen Äskulin-haltigen Substraten eigene Fluoreszenz. Eine gewisse Schwierigkeit bereiten Zwischenstufen, verursacht durch langsame bzw. verzögerte Äskulinspaltung, wobei es zu einer mehr oder weniger ausgeprägten Braunfärbung des Nährbodens kommt. Die Fluoreszenz bleibt dabei oft weitgehend erhalten. Ein typischer negativer und positiver Befund werden in Abb. 1 veranschaulicht.

Abb. 1. Negative (links) und positive (rechts) Äskulinspaltung nach 3 Tg. bei 30 °C.

Ergebnisse

Die Untersuchungen erstreckten sich auf die in Tabelle 1 aufgeführten Gattungen und Arten. Insgesamt wurden dabei 250 Stämme geprüft, in der Mehrzahl Kulturen der Gattungen *Candida, Torulopsis, Rhodotorula, Saccharomyces* und *Cryptococcus*, die bei der Untersuchung menschlicher Untersuchungsmaterialien am häufigsten anfallen.

Von einer detaillierten Wiedergabe *aller* Befunde, die sich beim Vergleich der Arbutinprobe mit der Äskulinspaltung ergaben, wird Abstand genommen, da im ganzen eine gewisse Übereinstimmung der beiden Reaktionen festzustellen war und die Ergebnisse der Arbutinprobe aus L o d d e r und K r e g e r - V a n R i j ' s Standardwerk (7) ersichtlich sind.

Allerdings war die Übereinstimmung nicht absolut, vor allem was den *Zeitpunkt des Reaktionsbeginnes*, angezeigt durch Bräunung bzw. Schwärzung des Mediums, und die *Intensität des Reaktionsausfalls* betraf. Gesetzmäßigkeiten ließen sich nicht erkennen; denn bei einzelnen Stämmen erschien die Äskulinspaltung gegenüber der Arbutinspaltung verzögert und abgeschwächt; bei anderen war es umgekehrt.

Bei der Wiederholungsuntersuchung solcher Stämme zeigte sich kein konstantes Verhalten, so daß angenommen wird, daß die beobachteten Unterschiede methodisch bedingt waren (z. B. wechselnde Einsaatmenge, Schwankungen in der Nährbodenzusammensetzung usw.).

Tabelle 1
Alphabetische Übersicht über die geprüften Sproßpilzarten

Gattung	Zahl der Arten	Zahl der Stämme
Candida	28	100
Cryptococcus	7	41
Debaryomyces	3	3
Geotrichum	3	8
Hansenula	2	4
Lipomyces	2	9
Pichia	3	5
Rhodotorula	8	21
Saccharomyces	11	17
Sporobolomyces	6	8
Torulopsis	8	13
Trichosporon	7	13
Andere (Endomycopsis, Endomyces, Nadsonia, Schwanniomyces, Schizosaccharomyces usw.)	8	8
Summe	96	250

Bei den in menschlichem Untersuchungsmaterial am häufigsten anzutreffenden *Candida*-Arten ergab sich insgesamt folgendes Bild

Tabelle 2
Äskulin- und Arbutinspaltung durch *Candida*-Arten

Art	Zahl der Stäm.	Äskulin			Arbutin		
		negativ	schwach positiv	positiv	negativ	schwach positiv	positiv
C. albicans	19	19	—	—	18	1/2 Tg.	—
C. brumptii	2	2	—	—	2	—	—
C. curvata	6	—	2/4 Tg.	4/1-2 Tg.	1	1/3 Tg.	4/1-2 Tg.
C. claussenii	1	1	—	—	1	—	—
C. catenulata	1	—	—	1/5 Tg.	—	1/2 Tg.	—
C. guilliermondii	4	—	4/1-5 Tg.	—	—	—	4/1-2 Tg.
C. humicola	2	1	1/4 Tg.	—	1	—	1/2 Tg.
C. intermedia	1	—	—	1/1 Tg.	—	—	1/1 Tg.
C. krusei	7	7	—	—	7	—	—
C. lipolytica	1	—	—	1/1 Tg.	—	—	1/2 Tg.
C. melibiosi	1	—	1/3 Tg.	—	—	—	1/1 Tg.
C. macedoniensis	2	—	—	2/2-6 Tg.	—	—	2/2 Tg.
C. melinii	1	—	—	1/1 Tg.	—	—	1/1 Tg.
C. mycoderma	16	16	—	—	16	—	—
C. parapsilosis	4	4	—	—	4	—	—
C. pelliculosa	1	—	—	1/1 Tg.	—	—	1/1 Tg.
C. pseudotropicalis	6	—	1/5 Tg.	5/2-4 Tg.	—	1/3 Tg.	5/2 Tg.
C. pulcherrima	1	—	—	1/1 Tg.	—	—	1/1 Tg.
C. reukaufii	1	—	—	1/1 Tg.	—	—	1/2 Tg.
C. robusta	1	1	—	—	1	—	—
C. rugosa	5	5	—	—	5	—	—
C. scottii	1	—	1/4 Tg.	—	1	—	—
C. solani	2	—	—	2/3-4 Tg.	—	—	2/1-2 Tg.
C. stellatoidea	1	1	—	—	1	—	—
C. tenuis	1	—	—	1/2 Tg.	—	—	1/3 Tg.
C. tropicalis	7	7	—	—	7	—	—
C. utilis	4	—	—	4/1-2 Tg.	—	—	4/1-5 Tg.
C. zeylanoides	1	1	—	—	1	—	—

Einige abweichende Ergebnisse, wie z. B. eine schwach positive Arbutinprobe bei einem *C. albicans*-Stamm, sind zur Zeit noch Gegenstand weiterer Prüfungen. Ausgenommen ein Stamm von *C. krusei*, der ebenfalls noch weiter kontrolliert wird, verhielten sich alle *C. mycoderma*- und *C. krusei*-Stämme Äskulinase- und Arbutinase-negativ. Dies würde mit der Ansicht vereinbar sein, daß beide Arten imperfekte Stadien der Gattung *Pichia* darstellen. Umgekehrt war *C. pelliculosa*, wahrscheinlich das imperfekte Stadium der Spezies *Hansenula anomala*, zur kräftigen Äskulin- und Arbutinspaltung befähigt. In Bestätigung früherer Befunde (12) erwiesen sich die Äskulin- und Arbutinprobe somit nicht nur als wertvolle Hilfe bei der Trennung von *Kahmhefen* der askosporogenen Gattungen *Pichia* (negativ bzw. schwach positiv) und *Hansenula* (stark positiv), sondern auch bei deren imperfekten Stadien.

6 *C. curvata*-Kulturen griffen Äskulin an, 4 davon innerhalb von 24 Std., 2 nach 4 Tagen. Demgegenüber war die Arbutinprobe bei einer Kultur negativ; die übrigen zeigten Braunfärbung nach 24 bis 72 Std. 1 *C. humicola*-Stamm war Äskulinase- und Arbutinase-negativ, ein anderer schwärzte das Äskulinmedium verzögert, griff aber Arbutin in 48 Std. an.

Von besonderem Interesse waren die Reaktionen der geprüften *Cryptococcus*-Stämme, die in Tabelle 3 wiedergegeben sind.

Tabelle 3

Äskulin- und Arbutinspaltung durch Cryptococcus- und Lipomyces-Arten

Art	Zahl der Stäm.	Äskulin			Arbutin		
		negativ	schwach positiv	positiv	negativ	schwach positiv	positiv
C. albidus	6	—	1/5 Tg.	5/1 Tg.	—	1/5 Tg.	5/2-3 Tg.
C. diffluens	7	—	1/1 Tg.	6/1 Tg.	—	—	7/1-2 Tg.
C. gastricus	2	2	—	—	1	1/5 Tg.	—
C. laurentii	6	1	—	5/2-5 Tg.	—	1/5 Tg.	4/2-5 Tg.
C. luteolus	1	1	—	—	1	—	—
C. neoformans	18	12	3/5-7 Tg.	3/5-7 Tg.	9	2/7 Tg.	7/2-5 Tg.
C. terreus	1	—	—	1/1 Tg.	—	—	1/1 Tg.
L. lopoferus	1	1	—	—	—	—	1/5 Tg.
L. starkeyi	8	—	2/3 Tag.	5/2-5 Tg.	1	—	7/2-5 Tg.

Im ganzen folgte auch hier die Fähigkeit zur Äskulinspaltung dem Ausfall der Arbutinprobe. Letztere zeigte insgesamt jedoch empfindlicher an und zeichnete sich vor allem bei *C. neoformans* durch vermehrte positive Befunde aus. Von 18 *C. neoformans*-Stämmen reagierten 66.6 ± 11 % Äskulinase-negativ und 50 ± 11,7 % Arbutinase-negativ. Die Unterschiede liegen somit noch im Bereich des einfachen mittleren Fehlers und sind nicht signifikant. Dese Aussage gilt jedoch nur für den Vergleich *aller* schwach oder stark positiv reagierenden *C. neoformans*-Stämme nach 7 bis 10 Tagen Beobachtung. Nach 5tägiger Bebrütung reagierten 10 von 18 Stämmen (d. h. 55,5 ± 11,7 %) negativ gegen Arbutin, aber 15 (d. h. 83,3 ± 8,8 %) negativ gegen Äskulin. Die Unterschiede liegen jenseits des einfachen mittleren

Fehlers. Obwohl innerhalb von 5 Tg. die Äskulinprobe bei *C. neoformans* weniger empfindlich anzeigte als die Arbutinprobe, ist sie für die Abgrenzung gegenüber den nicht selten anzutreffenden apathogenen Arten *C. albidus* und

C. diffluens, die ausnahmslos innerhalb von 5 Tg., meist schon nach 1—2 Tg., Äskulin bzw. Arbutin spalten, wertvoller; denn in der Differentialdiagnostik sind hochempfindliche Reaktionen oft unerwünscht, zumal sich Trennungslinien in zunehmendem Maße verwischen. 2 Stämme der erst kürzlich beschriebenen Art *C. gastricus* verhielten sich ebenfalls Äskulinase-negativ, ein Stamm griff jedoch nach 5 Tg. Arbutin an.

Zwischen *C. neoformans* und *Lipomyces starkeyi,* nach B e n h a m (3) vielleicht das perfekte Stadium von *C. neoformans,* zeigten sich in der Äskulinprobe deutliche Unterschiede, die bei der Arbutinspaltung nicht so klar in Erscheinung traten.

Obwohl sich auch bei den Stämmen der Gattung *Rhodotorula* im wesentlichen gleiche Befunde ergaben wie von holländischer Seite (7) mitgeteilt, zeigten sich vereinzelt Abweichungen. So fanden sich bei 2 *R.pallida*-Stämmen Äskulinase bzw. Arbutinase, obwohl die Arbutinspaltung als negativ bezeichnet wird (7). Die neu creierte Art *R. texensis* reagierte ebenfalls positiv. 2 *glutinis*-Stämme verhielten sich Äskulinase-positiv, aber Arbutinase-negativ, 4 andere umgekehrt, und 5 weitere Kulturen zeigten in beiden Reaktionen positiv an. Dies weicht etwas von den Beobachtungen von L o d d e r und K r e g e r - V a n R i j (7) ab, die stets Arbutinspaltung fanden.

Bei den *Torulopsis-Arten* war eine Kultur von *T. inconspicua* zur verzögerten Äskulinspaltung befähigt, während sie Arbutin nicht angriff. 4 Stämme von *T. famata* reagierten einheitlich Äskulinase-negativ, obwohl 2 Kulturen dieser Art Arbutin kräftig spalteten. *T. rotundata* und *T. candida* zeigten in Übereinstimmung mit der Arbutinspaltung auch eine kräftige Äskulinspaltung. *T. molischiana* und *T. aeria* erwiesen sich innerhalb von 24 Std. Äskulinase-positiv gegenüber einem deutlich verzögerten positiven Ausfall der Arbutinprobe.

Gute Übereinstimmung mit den Befunden der holländischen Verff. (7) zeigten sich bei der Untersuchung von *Trichosporon*-Stämmen. 2 *T. cutaneum*-Stämme waren Äskulinase- und Arbutinase-negativ, 3 weitere positiv, wobei die Äskulinprobe kräftiger und früher positiv ausfiel als die Arbutinspaltung. Eine Kultur griff nur Äskulin, nicht aber Arbutin an. 2 *T. capitatum*-Kulturen verhielten sich gegenüber beiden Glykosiden negativ. Das in mancher Hinsicht ähnliche *Geotrichum candidum* (6 Stämme) bildete ebenfalls weder Äskulinase noch Arbutinase, während *G. rotundum* und *G. rugosum* zur Spaltung beider Glykoside befähigt waren.

Die Äskulinase- bzw. Arbutinase-Aktivität der untersuchten *Sporobolomyces*-Stämme entsprach weitgehend den Befunden aus Holland (7), ausgenommen eine frisch aus Delft erhaltene Kultur von *S. gracilis,* die zwar Äskulin, aber nicht Arbutin angriff.

Da von den übrigen in Tab. 1 aufgeführten Arten meist nur Einzelstämme untersucht wurden, deren Verhalten keine Besonderheiten aufwies, wird auf die Darstellung dieser Befunde verzichtet.

Besprechung

In den vorstehend beschriebenen Untersuchungen hat sich erneut gezeigt, daß durch die Prüfung der Spaltbarkeit bestimmter β-Glykoside die Hefediagnostik bereichert wird. Während bei orientierenden Versuchen die Glykoside Salizin und Inulin keinen wesentlichen differentialdiagnostischen Wert bei Sproßpilzen erkennen ließen, boten sich Äskulin und das bereits bewährte Arbutin als brauchbare Hilfsmittel zur Artentrennung an.

Wie von Barnett und Mitarb. (2) hervorgehoben wird, ist der Reaktionsausfall entscheidend vom Nährboden abhängig; denn die Zahl und Intensität positiver Reaktionen steigt mit zunehmender Komplettierung des Nährsubstrats meßbar an. Auf einem „Maximalmedium" sollen alle Hefen in der Lage sein, Äskulin anzugreifen, und nach Lodder und Kreger-Van Rij (7) sind die β-Glykoside untereinander als weitgehend gleichwertig bei der Sproßpilzartendifferenzierung anzusehen. Nach den eigenen Beobachtungen trifft dies im großen und ganzen für Äskulin und Arbutin auch zu, obwohl die Übereinstimmung keinesfalls absolut war und gelegentlich deutliche Diskrepanzen auftraten. Barnett et al. (2) haben bereits auf gewisse Anomalien bei der Gattung *Kloeckera* aufmerksam gemacht; in den geschilderten Versuchen haben sich weitere Anhaltspunkte dafür ergeben, daß auch bei anderen Gattungen mit solchen Anomalien zu rechnen ist. Dies ist umso überraschender, als die benutzten Äskulin- bzw. Arbutinmedien durch hochwertiges Pepton und Wickerham's Vitaminlösung soweit als möglich komplettiert worden waren.

Es fragt sich jedoch, ob es erstrebenswert ist, in der *praktischen* Diagnostik biochemische Reaktionen so empfindlich zu gestalten, daß auch andeutungsweise positive Reaktionen in Erscheinung treten. An einer Reihe von Beispielen, insbesondere aus der Gattung *Cryptococcus* und ihren Verwandten, läßt sich zeigen, daß durch zunehmende Empfindlichkeit der Reaktion die β-Glykosidspaltung mehr und mehr von ihrem differentialdiagnostischen Wert einbüßt, während bei einer relativen Unempfindlichkeit brauchbare Anhaltspunkte für die in der Routine erwünschte Schnelldiagnostik zur Artentrennung gewonnen werden können.

So war beispielsweise kein *C. neoformans*-Stamm in der Lage, innerhalb von 48 Std. Äskulin anzugreifen, während fast alle *C. diffluens*- und *C. albidus*-Kulturen hierzu imstande waren. Es scheint, daß hier eine Möglichkeit besteht, die Mehrzahl apathogener *Cryptococcus*-Stämme rasch auszusondern, vor allem, wenn gleichzeitig die Nitratassimilation und das Wachstum bei 37 C geprüft werden. Andererseits mahnen die Befunde bei *C. luteolus* und bei *C. gastricus* zur Vorsicht, denn auch diese Arten sind bei kurzfristiger Beobachtung Äskulinase-negativ. Immerhin kann nach den nunmehr fast zweijährigen Erfahrungen mit der Äskulinprobe festgestellt werden, daß hierdurch für die *Cryptococcus*-Diagnostik ein weiteres brauchbares Hilfsmittel zur Verfügung steht, das die diagnostische Arbeit wesentlich erleichtert. In der Routine müssen zunächst alle weiß oder schleimig wachsenden Sproßpilze, die Urease bilden (8) (10) und Traubenzucker nicht fermentieren, als *Cryptococcus*-verdächtig angesehen werden. Fehlende Kapselbildung schließt *C. neoformans* nicht aus. Fällt die Glykosidspaltung innerhalb von 48 Std. stark positiv aus, handelt es sich mit großer Wahrscheinlichkeit nicht um die pathogene Art *C. neoformans*, deren endgültige Diagnose nur durch den Tierversuch in Zusammenhang mit serologischen Versuchen gestellt werden kann (11).

Die Arbutinprobe, deren großer Wert bei der Hefediagnostik nicht geschmälert werden soll, hat bei der *Cryptococcusneoformans*-Diagnostik unsere Hoffnungen weniger erfüllt als die Äskulinprobe, die vielleicht etwas weniger empfindlich, aber dafür oft relativ spezifisch anzeigt und die Aussonderung vieler apathogener Stämme ermöglicht, so daß manche Arbeit gespart werden kann.

Die Wiedereinführung der Äskulinprobe in die Sproßpilzdiagnostik dürfte vor allem dem bakteriologischen Laboratorium zugute kommen, das heute in zunehmendem Maße in die mykologische Diagnostik eingeschaltet wird. Das Ver-

fahren ist in seinen Grundzügen bekannt und die benötigten Nährboden-Ingredienzien sind fast überall vorhanden. Allerdings dürfte es zweckmäßig sein, die vielfach übliche Testung in flüssigen äskulinhaltigen Substraten durch Verwendung des hier benutzten *Oberflächenkulturverfahrens* zu ersetzen und dem Nährboden das Eisenammoniumzitrat schon bei der Herstellung zuzugeben, da es sonst schwer ist, den Eintritt der Äskulinspaltung zu erkennen. Im übrigen ist es gleichgültig, ob Eisenchlorid oder Eisenammoniumzitrat zugesetzt werden, entscheidend für die Reaktion (Braun- bzw. Schwarzfärbung) ist lediglich das Eisenion.

Die erhobenen Befunde an Sproßpilzen deuten darauf hin, daß trotz vieler Gemeinsamkeiten bei der Spaltung verschiedener β-Glykoside manche Unterschiede bestehen, die es vielleicht angezeigt erscheinen lassen, anstelle eines einzigen Glykosids besser zwie oder mehrere parallel zu testen. Hierbei dürfte auch für das mykologische Laboratorium, das sich speziell mit der Sproßpilzdiagnostik befaßt, die Äskulinprobe als wertvolle Ergänzung der Arbutinprobe in Betracht kommen. Dies steht in völliger Übereinstimmung mit der Ansicht von Barnett et al. (2), wonach begründete Anhaltspunkte dafür bestehen, daß die Hefen in ihrem Vermögen zur Spaltung der verschiedenen β-Glykoside erheblich variieren und die Arbutinspaltung nicht als einziges bzw. verläßliches Kriterium der β-Glykosidasebildung anerkannt werden kann. Während für den Zweck der praktischen Routinediagnostik qualitative Testverfahren meist ausreichen, wird man bei anderen Untersuchungen, insbesondere zur Klärung der verwickelten Systematik, standardisierte quantitative Testverfahren anwenden müssen. Aber auch mit den hier benutzten relativ groben Methoden ließen sich weitere Hinweise für verwandtschaftliche Beziehungen zwischen einzelnen imperfekten und perfekten Stadien verschiedener Formgenera gewinnen, während umgekehrt vermutete Beziehungen, z. B. zwischen *C. neoformans* und *Lipomyces starkeyi* (3), keine Stütze erhielten und dadurch frühere Befunde (11) auch auf diese Weise bekräftigt wurden.

Zusammenfassung

Zahlreiche Sproßpilzarten bilden neben einer Arbutinase auch Äskulinase. Allerdings laufen beide Reaktionen nicht immer parallel. Die Äskulinspaltung hat vor allem in der Gattung *Cryptococcus* erheblichen differentialdiagnostischen Wert, da sie die Aussonderung vieler apathogener Stämme in 24—48 Std. ermöglicht. Alle *C. neoformans*-Stämme verhielten sich innerhalb dieser Zeit Äskulinase-negativ. Die Befunde werden den Ergebnissen an anderen Arten gegenübergestellt. Es wird empfohlen, die in der Bakteriologie bewährte Äskulinprobe auch in der Sproßpilzdiagnostik zu verwenden.

Literatur

1. Barnett, J. A. & Swain, T.: Splitting of Aesculin by Yeasts. Nature, Lond. **177**, 133 (1956). — 2. Barnett, J. A., Ingram, M. & Swain, T.: The Use of β-Glucosides in Classifying Yeasts. J. Gen. Microbiol. **15**, 529 (1956). — 3. Benham, Rh.: Cryptococcus neoformans: An ascomycete. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **89**, 243—245 (1955). — 4. Castellani, A. & Douglas, M.: Reaction of Organisms on Arbutin Agar. J. Trop. Med. (Hyg.) **38**, 197 (1955). — 5. Diddens, H. A. & Lodder, J.: Die Hefesammlung des Centraal-Bureau voor Schimmelcultures II. Teil. Die anaskosporogenen Hefen. Amsterdam: N.V. Noord-Hollandsche Uitgeversmaatschappij. (1942). — 6. Lodder, J.: Die anaskosporogenen Hefen. Amsterdam: N. V. Noord-Hollandsche Uitgeversmaatschappij. (1934). — 7. Lodder, J. & N. J. Kreger - Van Rij: The Yeasts. A taxonomic Study, 1sted. Amsterdam: North Holland Publ. Comp. (1952). — 8. Littman, M. L.: An improved Method for Detection of Urea Hydrolysis by Fungi. J. Infect. Dis. **101**, 51 (1957). — 9. Schaefer, E. & H. P. R. Seeliger: Über die Bildung von Oxydasen durch Sproßpilze (im Manuskript). — 10. Seeliger, H. P. R.: Use of a Urease Test for the Screening and Identification of Cryptococci. J. Bact. **72**, 127 (1956). — 11. Seeliger, H. P. R.: Das kulturell-biochemische und serologische Verhalten der Cryptococcus-Gruppe. — 12. Stelling - Dek-

ker, N. M.: Die sporogenen Hefen. Amsterdam: De Koninklijke Akademie van Wetenschappen (1931). — 13. Wickerham, L. J. & Burton, K. A.: Carbon Assimilation Tests for the Classification of Yeasts. J. Bact. 56, 363 (1951).

Anschr. d. Verf.: Bonn, Venusberg

Die Cleistothecium-Bildung von Ctenomyces trichophyticus — Trichophyton gypseum var. asteroides — auf sterilisiertem Heu

Von S. SZATHMÁRY

Mitteilung des Ärztlichen Mykologischen Laboratoriums zu Karcag, Ungarn (Vorstand: Dr. S. Szathmáry)

Das Vorkommen einiger zur Familie der Aleurismen (Vuillemin) gehörenden Arten in einem verschiedene biocönotische Möglichkeiten bietenden Erdboden ist heute schon durch zahlreiche Proben der Bodenzüchtung bewiesen worden. Durch die Modifizierung von Vanbreuseghems Verfahren, d. h. durch Anwendung von Frauenhaar konnte man die Entwicklung der Cleistothecia (Perithecia) der Spezies Ctenomyces trichophyticus (aus den Trichophyton-gypseum-Arten) an Proben beobachten, die aus verschiedenen Erdböden genommen wurden (Szathmáry). Dabei habe ich folgende charakteristische Eigenschaften des Cleistotheciums von Ctenomyces trichophyticus festgestellt: Es sind schneeweiße, regelrecht runde Kügelchen mit einem Durchmesser von 0,3—1 mm, die gewöhnlich ganz selbständig

Abb. 1

und meist von recht geringem Luftmycel umgeben, oder aber auch davon gänzlich isoliert (losgelöst) auf der Oberfläche des Erdbodens vereinzelt oder gruppenweise vorkommen (Abb. 1) und sich vom Erdboden leicht abheben lassen. Sie bestehen aus zwei Teilen, und zwar aus einer äußeren, meist dünnen Kapsel und einem inneren Sporenhaufen. Die Kapsel wird aus dicken Fäden von körniger Oberfläche gebildet, welche aus biskuitförmigen Gliedern zusammengesetzt sind; unter diesen bilden die innersten Fäden die Asci, während die übrigen mitsamt ihren bogenförmigen Seitenzweigen zu einem breitmaschigen Netzkorb um den Haufen der Asci und Ascosporen zusammengeschlossen werden. Die Ausläufer der äußersten Fäden mit ihrer gemsenhornartigen Form bilden die kennzeichnenden Ornamente des Cleistotheciums, dem die Spiralen mit mehr oder weniger Windung einen Artgruppe-bestimmenden Charakter geben (Abb. 2). Die durch diese zwei Formen gebildete Ornamentik ermöglicht nun die botanische Einteilung dieser Pilzart in die Ctenomyces-Artgruppe der Gymnoascaceae, und zwar laut der obenerwähnten Zierden zwischen den Gymnoascus gypseus- und Myxotrichum-Arten.

Abb. 2

Im Interesse der Identifikation erschien nun die Bestätigung der Tatsache notwendig, daß diese Cleistothecia wirklich die perfekten geschlechtlichen Fortpflanzungsorgane der Spezies T. gypseum var. asteroides, bzw. botanisch betrachtet der Art des Ctenomyces trichophyticus sind.
Die Kriterien der Beweisführung sind folgende:

1. Das biologische Verfahren

Durch Einimpfen des auf sterilem Stroh und Erdboden gebildeten Reibstoffes der Cleistothecia in die Haut recht junger Meerschweinchen ist es uns gelungen — wenn auch selten und ausnahmsweise — eine Trichphytie herbeizuführen. An den vom Pilzherd entnommenen Schuppen konnte man teils septierte, teils aber sporulierende Pilzfäden und an den intrafollikulären Teilen der einzelnen Haare in ektothricher Anordnung Kleinsporen von 3—3,5 μ Dm. beobachten. Aus diesen haben sich auf Kohlenhydrat-Nährböden Kulturen mit Ctenomyces-Gepräge entwickelt, für welche sich die strukturlose glatte Scheibe mit staubiger Oberfläche von 4—5 mm Durchmesser und einer zentralen Erhebung als charakteristisch erwiesen hatte. Die auf Sabourard's Pepton-Agar gezüchteten Kulturen haben mit ihrer strahlenförmig gerippten und in der Mitte stellenweise

kraterartig geformten Vertiefung eine Oberflächenarchitektur gezeigt, die mit dem Typus Trichphyton pratense Szathmáry (1942), bzw. dem T. gypseum var. „A" Szathmáry (1929) übereinstimmte.

2. Unsere *Züchtungsproben* wollten wir durch experimentelle Produktion dieses Cleistotheciums ergänzen. Ein solches Verfahren ist das folgende:

Ein durch Trockenwärme (130 C) sterilisierter und mit sterilisiertem destilliertem Wasser benetzter Gartenboden soll nach Beimpfung mit Sporen des aus einer menschlichen Trichophytie gezüchteten und durch Laboratoriumsverfahren genau identifizierten T. gypseum var. asteroides innerhalb 3—4 Wochen in Gegenwart sterilen Frauenhaares weiße Cleistothecia in reichlicher Menge hervorbringen (Abb. 3), die mit den spontan entstandenen auch in ihrer Struktur übereinstimmen.

3. Ein anderes Verfahren ist die Verimpfung der gleichfalls aus einer menschlichen Trichophytie gezüchteten Sporen von T. gypseum var. asteroides auf Heu, das mit feuchter Wärme sterilisiert ist. Die Versuchsanordnung war folgende: Sporen von T. gypseum var. asteroides wurden durch Trockenwärme (125—130 °C für 30 Minuten) auf sterilisierte Heufäden verimpft, die später noch in Reagenzgläsern (2 cm^3 Wasser pro Glas) wieder sterilisiert wurden. In 2—4 Wochen haben sich auf den Heufäden matte ockergelbe Knötchen von Mohnkorngröße und noch größerem Format entwickelt (Abb. 4), welche mikroskopisch mit jenen Cleistothecia des Ctenomyces trichophyticus vollkommen übereinstimmen, die sich bei Erdboden-Proben in Petri-Schalen entwickelt hatten, wo der Boden mit sterilem Frauenhaar bestreut wurde. Die dicken gemsenhornähnlichen Fäden, die das Gerippe dieser Cleistothecia bilden (Abb. 5 und 6) und die mit ihnen gewöhnlich reichlich vorkommenden Spiralen sowie die Eigenschaften der Ascosporen haben sich mit jenen als identisch erwiesen. Die aus ihnen gezüchteten Kulturen zeigten jedoch in ihrer überwiegenden Mehrheit keine Übereinstimmung mit denen des T. gypseum var. asteroides; aus diesen wurden ja teils Kulturen mit dem Ctenomyces entsprechenden „A-" bzw. „B"-Typus des T. gypseum mit glatter strukturloser Scheibe und knopfähnlichem Zentrum gebildet (Abb. 7), teils aber Kulturen mit Makrokultureigenschaften, welche dem T. gypseum var. asteroides entsprachen. Die früher erwähnten zeigten eine große Ähnlichkeit mit jenen, die sich am besten als „Grastyp" bezeichnen möchte. Diese Kulturen habe ich folgendermaßen erhalten: auf Heu, das mit Aq. dest. steril. sterilisiert wurde, entwickelten sich aus in Eprouvetten gezüchtetem T. gypseum var. asteroides Kulturen auf Sabouraud'schem Glukose- oder Maltose Pepton-agar, welche gewöhnlich keine Oberflächen-Architektur zeigten, in ihrer Mitte keinen Knopf bildeten, sonst aber ein zartes und tuchartig flauschiges Äußeres und scharf gezeichnete Randkonturen ohne Strahlenform hatten (Abb. 8). Diese Kultur habe ich auf Grund der auf Heu bzw. Gras erfolgten Züchtung als „Grastyp" (Abb. 9) bezeichnet. Kulturen von diesem Typ haben zwar auf Fäden sitzende Sporen gebildet (laterale Sporenbildung), doch waren Zeichen der Differenzierung (Acladium, Thyrsus-Bildung) nicht zu beobachten, wie auch die Spiralenbildung hier stark zurückgetreten oder gar aufgehört hatte. Die Mannigfaltigkeit in der Größe der Sporen hat ihnen ein Merkmal verliehen, das ihre Zugehörigkeit zu den Ctenomyces-Arten deutlich erkennen läßt. Die Zugehörigkeit zu den Trichophyton-Arten wurde außerdem nicht nur durch die Anwesenheit von Spiralen bestätigt, sondern auch durch erfolgreiche experimentelle Übertragung auf Meerschweinchen bewiesen, wobei man an den intrafollikulären Abschnitten

herangezogener Haare kleiner Ektothrix-Sporenanhäufungen von ca. 3 μ Dm. beobachten konnte.
Die auf Heufäden entwickelten gelblichweißen kugelförmigen Knötchen kann man also zum Beweis dafür betrachten, daß Ctenomyces trichophyticus mit T. gypseum var. asteroides identisch ist.

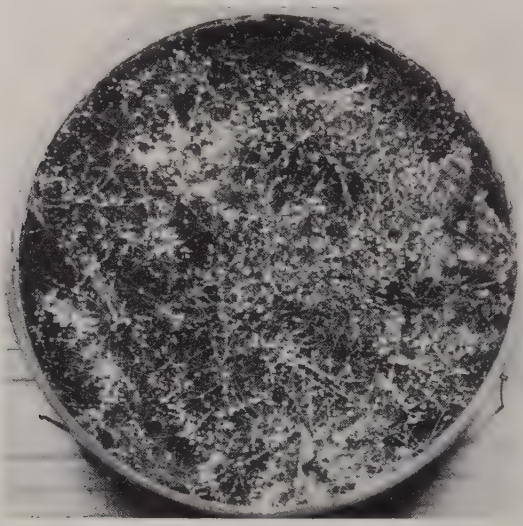


Abb. 3

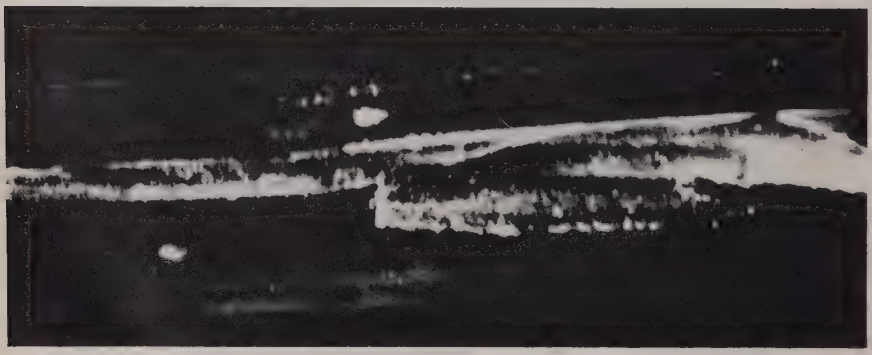


Abb. 4

Zur Kontrolle unserer Versuchsergebnisse haben wir in derselben Reihe der Versuche auch Kaufmann-Wolfsches Epidermophyton in genau der gleichen Weise auf sterile Heufäden verimpft. Diese Pilzart ist aber schon von Anfang an mit einem reicheren Luftmycel gewachsen und verriet wenig Neigung zur Cleistothecium-Bildung. Nur stellenweise haben sich von Luftfäden flauschige Klümpchen von 0,2—0,8 mm Dm. mit verschwommenen Umrissen gebildet. Diese zeigten in ihrer Struktur in vieler Hinsicht Übereinstimmung mit

den Cleistothecia des Ctenomyces trichphyticus, weshalb man zu dem Schluß kommen konnte, daß der Kaufmann-Wolf'sche Pilz zwar nicht vollkommen mit dem T. gypseum var. asteroides identisch, wohl aber mit diesem nahe verwandt sein muß und von jenem sich zwar nicht morphologisch, um so mehr aber in biologischer Hinsicht abgrenzen läßt. *Es ist biologisch als dessen Mutans-Verwandter zu betrachten.*

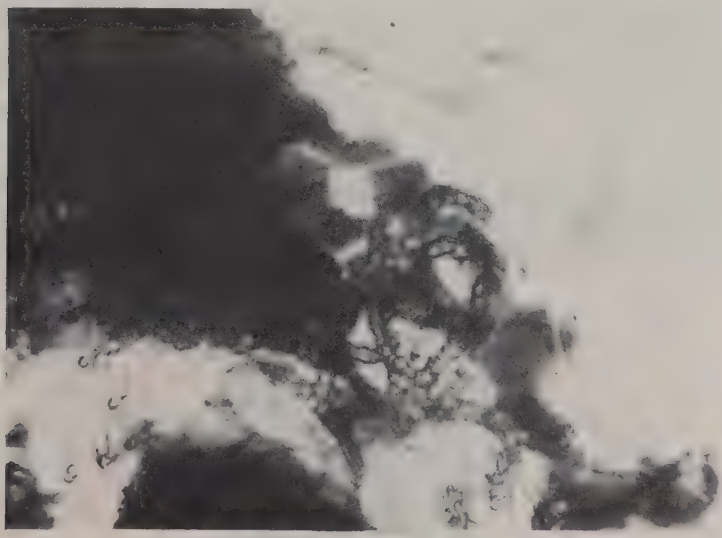


Abb. 5

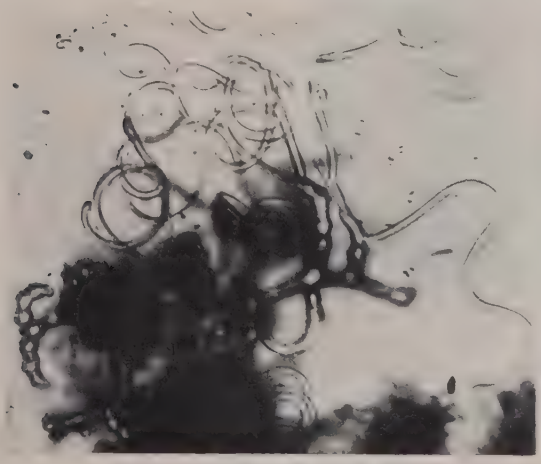


Abb. 6

Abb. 7

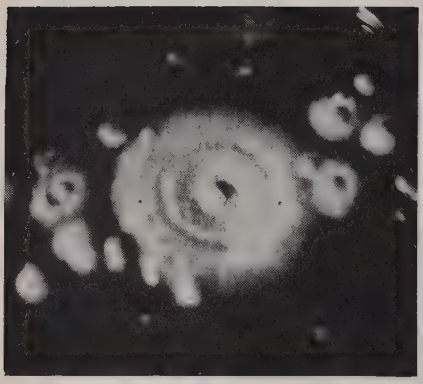


Abb. 8

Abb. 9

Abb. 10

Die Übereinstimmung der auf mit Frauenhaar bestreuten Erdbodenproben und auf Heufäden entwickelten Cleistothecia des Ct. trichophyticus (T. gypseum var. asteroides) bestätigt einerseits, daß die Cleistothecium-Struktur dieses Dermatophytons für diese Spezies charakteristisch ist, andererseits aber, daß das T. gypseum var. asteroides seine Lebensbedingungen auch auf Heu zu finden vermag, was zur Annahme berechtigt, daß Infektionen auch auf

diese Weise entstehen können. Diese letztere Voraussetzung ist z. Zt. vorerst nur durch Versuche mit Meerschweinchen bewiesen worden, doch läßt sich diese Möglichkeit nicht ausschließen. In dieser Hinsicht muß besonders beachtet werden, daß die Beweisführung durch den Umstand erschwert wird, daß nicht jeder Pilzstamm für Versuchszwecke geeignet erscheint. Hierfür soll man womöglich autochthone (aus freier Natur stammende), aus erster und kurz dauernder, durch Menschenpassage entstandener Infektion gewonnene Kulturen verwenden. Diese Pilzarten haben nämlich ihre Saprophyten-Eigenschaft noch nicht endgültig verloren. Darauf weist auch der Umstand hin, daß diese Pilzarten auf Kohlenhydrat-Nährböden teils typisch wachsen, teils aber hirsekorngroße Knötchen bilden (Abb. 10). Als solche kann man auch jene Pilze erachten, welche Rieth auf den Kulturen des Achorion gallinae beobachtet hatte.

Zusammenfassung

Die auf sterilem Heu gebildeten Cleistothecia des Ctenomyces trichophyticus haben sich identisch mit jenen erwiesen, welche sich auf mit Frauenhaar bestreutem Erde-Nährboden entwickelten. Dies wird als Beweis dafür angesehen, daß einerseits das T. gypseum var. asteroides mit dem Ctenomyces trichophyticus identisch ist, andererseits aber ermöglicht dieses Verfahren die Ausarbeitung einer Methode, durch die das zur botanischen Klassifizierung nötige Cleistothecium auch für andere Dermatophyten aufgedeckt werden könnte.

Experimentelle Untersuchungen über die Desinfektionsmöglichkeiten von mit hautpathogenen Pilzstämmen infizierter Strumpfbekleidung aus Chemiefaserstoffen

Von U. KAPPEL

Aus der dermatologischen Abteilung im Städt. Krankenhaus Berlin-Britz
(Chefarzt: Prof. Dr. med. H. Teller)

I. Einleitung und Problemstellung

Die Hautpilzerkrankungen gewinnen in der ärtzlichen Praxis zunehmend an Bedeutung. Klövekorn glaubt, daß jeder 5. West-Europäer an einer Fußmykose leidet, während Polemann für Deutschland bei jedem 2. irgendeinen Pilzbefall annimmt. Im amerikanischen Schrifttum finden wir die Vermutung ausgesprochen, daß jeder Mensch einmal eine Pilzinfektion durchmacht. Es handelt sich bei diesen Angaben freilich nur um grobe Schätzungen. Sicheres wissen wir über die Morbiditätsverhältnisse in bestimmten Berufsgruppen, auch sprechen vergleichende statistische Untersuchungen für eine echte Zunahme der Hautpilzinfektionen in den letzten Jahren. So konnten Jentsch, wie auch Langer am Krankengut der Charité beim Vergleich der Erkrankungsziffern aus den Vorkriegsjahren mit denen der frühen und späteren Nachkriegszeit eine deutliche Zunahme der Pilzinfektionen, insbesondere der Fußmykosen aufzeigen. Für die Freiburger Universitätshautklinik wies Pfister einen kontinuierlichen Anstieg des Anteils der Mykosen bei den jährlichen Zugängen der Poliklinik für den Zeitraum von 1931 bis 1954 nach. Auch Götz fand am klinischen und poliklinischen Krankengut der Hamburger Universitätspoliklinik einen Anstieg der Mykosen beim Vergleich der Vor- und Nachkriegsjahre. Schließlich konnte Memmesheimer bei 1000 Begut-

achtungsfällen im Jahre 1942 einen Pilzbefall in 30 % feststellen, während 10 Jahre später bei einem zahlenmäßig gleichen Kontingent 50 % Mykosen gefunden wurden.

Von einigen Berufsgruppen wissen wir um eine besonders hohe Morbidität der Fußmykosen. So berichten Hansen und Rieth in einem Gummiwerk von einer 75,5 %igen Durchseuchung der Belegschaft. Wilde fand bei Bergleuten 70 % Fußpilzbefall. Ähnlich hohe Prozentzahlen sind von Reihenuntersuchungen bei der kasernierten Polizei und beim Krankenpflegepersonal bekannt.

Nicht nur die Erwachsenen sind durch Mykosen gefährdet, sondern auch im schulpflichtigen Alter sahen wir bei Reihenuntersuchungen (Scheffler) in 24 % klinisch verdächtige Befunde, die in 37,5 % mikroskopisch bestätigt werden konnten. Gleichartige Ergebnisse für diese Altersgruppen hatte auch Polemann.

Die Möglichkeiten, eine Haut- und insbesondere Fußpilzerkrankung zu erwerben sind vielfältige. In der Wohngemeinschaft erfolgt die Übertragung häufig durch gemeinsam benutzte Waschutensilien, Schuhe, Pantoffeln, Kleidungsstücke und Fußmatten in Badezimmern. In Betrieben und Gemeinschaftslagern spielen Waschkaue, Duschräume, dort besonders Holzroste, in denen sich die Pilzsporen gern festsetzen und in dem feucht-warmen Milieu infektionstüchtig erhalten, eine große Rolle.

Gleiche Infektionsmöglichkeiten sind in Schwimm- und Badeanstalten sowie auf den modernen Campingplätzen gegeben. In der Industrie kann das Tragen von Gummischutzstiefeln, falls diese nicht, wie in einigen neuzeitlichen Betrieben durchgeführt, aus einem pilzfeindlichen Gummistoff hergestellt sind, Infektionen weitergeben und fördern. Unsere Aufzählung ist nicht vollständig. Es sollten auch nur die wichtigsten Infektionsquellen erwähnt werden.

Den Hauptanteil der Pilzinfektionen stellen die Fußmykosen. Abgesehen von den lästigen, die Arbeitsfähigkeit des Betroffenen häufig erheblich beeinträchtigenden Erkrankungssymptomen der Hautpilzerkrankungen sind letztere oft Wegbereiter ekzematöser Dermatosen sowie einer allgemeinen Sensibilisierung des Hautorgans. In ihrer Folge treten ferner Allergien gegen Pilzextraktstoffe, wie sie die Antibiotika darstellen, auf und erschweren damit in ernsten Krankheitssituationen den Einsatz dieser oft lebensrettenden Präparate.

So haben die Hautpilzerkrankungen eine erhebliche sozial-medizinische und klinische Bedeutung, welche in Anbetracht der vorerwähnten weiten Verbreitung zu ernsthaften Bekämpfungsmaßnahmen zwingen.

Das Augenmerk wird sich hierbei zunächst auf den Erkrankten zu richten haben und eine gründliche antimykotische Lokalbehandlung das erste Erfordernis sein. Die diesbezüglich gegebenen Möglichkeiten sollen hier nicht im Einzelnen besprochen werden. Der besten antimykotischen Lokaltherapie wird jedoch ein dauerhafter Erfolg versagt bleiben, sofern nicht laufende Desinfektionsmaßnahmen Hand in Hand mit ihr gehen. Dieser bedürfen nicht nur Wasch- und Baderäume, sondern vor allem auch die Strumpf- und Schuhbekleidung der Erkrankten.

Bezüglich der Bekleidungsdesinfektion sind im Schrifttum bisher nur spärliche Angaben gemacht. Als geeignete Desinfektionsmittel nannte E. Fischer 0,2 %ige wässerige Merfenlösung, 2 %ige Desogenlösung, 1 %ige Bradollösung. Für die Schuhdesinfektion empfiehlt er eine Formaldehydbedampfungsmethode nach folgendem Verfahren:

Ein mit Formaldehyd getränkter Wattebausch wird für 96 Stunden in den Schuh gelegt. Dieser wird außerdem in wasserdichtes Guttapercha oder Pergament luftdicht eingewickelt. Eine Chlorvergasung für 30 Minuten empfiehlt Traub. G. W. Fischer verwendet zur Desinfektion Merfen-, Tego- und Mycotinlösung. Ein Oberflächenaerosol, welches Dichlorophen, Hexachlorophen, Undecylensäure und Propandiol enthält, benutzt Stegner zur Therapie, Prophylaxe und Desinfektion.

Pfister konnte zeigen, daß beim Kochen und Überbrühen von Kleidungsstücken Pilzsporen nicht beeinflußt werden, auch der Waschprozeß mit gebräuchlichen Waschmitteln, wie Rei, Persil, Suwa und andere, hatte keinen Hemmeffekt auf das Pilzwachstum. Somit wären die im Haushalt üblichen Reinigungsmethoden als Desinfektionsverfahren bei den Mykosen bedeutungslos.

Vor ein besonderes Problem stellt in diesem Zusammenhang die Desinfektion von Strumpfbekleidung aus Chemiefaserstoffen. Diese sollen nicht gekocht werden, gelten als empfindlich gegenüber Chemikalien. Wenn auch von Fischer sowie Polemann bei der Untersuchung der Strümpfe von Patienten mit Fußpilzinfektionen kulturell eine recht geringe Ausbeute gefunden wurde, so darf daraus unseres Erachtens nicht geschlossen werden, daß die Strumpfbekleidung als Pilzreservoir und Reinfektionsquelle von geringer Bedeutung ist.

Die jeweilige Ausbeute hängt sicher entscheidend von dem methodischen Vorgehen ab.

Wir hatten uns die Aufgabe gestellt, die Frage der Desinfektionsmöglichkeit und -notwendigkeit chemiefaserhaltiger Strumpfbekleidung bei Fußmykosen experimentell zu untersuchen. Im einzelnen waren dazu folgende Punkte zu klären:

1. Läßt sich aus Chemiefasergewirk hergestelltes Strumpfgewebe in vitro mykotisch infizieren?
2. Kann das so infizierte Strumpfgewebe durch haushaltsübliche Waschmethoden pilzfrei gemacht werden (Nachprüfung der Pfister'schen Untersuchungen)?
3. Ist ein uns von den Bayer-Werken zur Verfügung gestelltes Desinfektionsmittel mit der Versuchsnummer „Bayer 4169" geeignet, eine zuverlässige Desinfektionswirkung bei experimentell infiziertem Strumpfgewebe zu erzielen?
4. In welchem Umfang lassen sich bei Fußmykosen aus getragenem Chemiefaserstrumpfwerk pathogene Pilze kulturell nachweisen (Ergänzung der Untersuchungen von Fischer und Polemann)?
   Können die auf diese Weise infizierten Strümpfe ebenfalls mit dem Bayer-Präparat pilzfrei gemacht werden?

II. Material

Für unsere Untersuchungen standen fabrikneue Strümpfe aus folgenden Chemiefaserstoffen zur Verfügung:

1. Perlon
2. Cuprama-Perlon
3. Wolle-Cuprama-Perlon
4. Dralon-Perlon.

ad 1) Perlongewebe besteht aus vollsynthetischen, dem Nylon verwandten Polyamidfasern von hoher Reiss-, Knickbruch- und Scheuerfestigkeit mit vorzüglicher Elastizität. Die Fasern sind quellfest, leichter als Naturfasern, gegen Laugen und Salzlösungen beständig. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 215 Grad.

ad 2) Beim Cuprama-Perlon-Gewebe handelt es sich neben dem Perlon beim Cuprama um eine halbsynthetische Zellulose-Schnittfaser.

ad 4) Dralon besteht aus vollsynthetischen Polyacrylnitrilfasern mit wolleähnlichem Charakter und guten Wärmerückhaltvermögen. Es filzt nicht, ist quellfest und nimmt kaum Wasser auf. Spezifisch leichter als Naturfaser, besitzt die Dralonfaser eine gute Scheuer- und Reißfestigkeit, sowie hohe Säuren- und Laugenbeständigkeit.

Zur Infektion des Strumpfwerkes verwandten wir drei frisch sporolierende hautpathogene Pilzstämme.

1. Trichophyton mentagrophytes = Kaufmann-Wolf-Pilz
2. Trichophyton rubrum = Epidermophyton rubrum Castellani
3. Candida albicans.

Bei dem uns von Bayer zur Verfügung gestellten Versuchspräparaten handelt es sich um ein weißes, kristallinisches, nicht hygroskopisches Pulver aus der Gruppe der quarternären Ammoniumverbindungen. Es löst sich leicht in kaltem Wasser zu einer geruchlosen, wasserklaren, schäumenden Lösung mit gutem Reinigungseffekt, hoher Benetzungsfähigkeit, geringer Oberflächenspannung und somit gutem Eindringungsvermögen. Für unsere Desinfektionsversuche verwandten wir 1 ‰ige Lösungen, nachdem diese in den Laboratorien der Bayer-Werke in vitro eine gute antimykotische Wirkung sowie einwandfreie Hautverträglichkeit und keine Schädigung von Kunstfaserstoffen gezeigt hatten.
Als Nährboden für die Verimpfung pilzhaltigen Strumpfgewebes verwandten wir in Schrägagarröhrchen einen festen Dextroseagar, dem Penicillin, Streptomycin und Cycloheximid zugesetzt war, um das Wachstum von Bakterien und Schimmelpilzen zu verhindern. Der Dextroseagar hatte folgende Zusammensetzung:

Dextrose	10,0
Pepton	10,0
Agar-Agar	20,0
Aqua dest	1000,0

Auf 250 g dieses Dextroseagars kamen ca. 10 000 I. E. Penicillin, 10 000 Gamma Streptomycin und 0,125 g Cycloheximid (Actidion).
Für den klinischen Versuch standen 20 stationäre Patienten mit Haut- und Nagelmykosen an den Füßen zur Verfügung.

III. Methode und Ergebnisse

Versuch 1

Es sollte geprüft werden, ob Strumpfgewebe aus den vorerwähnten Chemiefaserarten eine Pilzsuspension annimmt.

Wir gingen hierbei unter sterilen Kautelen wie folgt vor:

Aus den Strümpfen wurden rechteckige Stückchen von etwa 5 mm Kantenlänge geschnitten. Sodann stellten wir eine Suspension aus Pilzkulturmaterial mittels

physiologischer Kochsalzlösung her. In 20 ccm Kochsalzlösung wurden von Candida albicans 1, von Trichophyton mentagrophytes und rubrum je 2 Ösen verrieben, was am leichtetsen bei der Candida albicans, wesentlich schwerer beim Trichophyton rubrum gelang. Aus diesem Grunde wurden auch von Trichophyton mentagrophytes und rubrum je 2 Ösen Kulturmenge in die Lösung gebracht.

Versuch 1.

Tag	4.	5.	6.	7.	8.
Candida albicans					
Perlon	0	+	+	⊕	⊕
Wolle-Cuprama-Perlon	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
Cuprama-Perlon	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
Dralon-Perlon	0	+	+	+	+

Zeichenerklärung:
0 = kein Wachstum
+ = geringes Wachstum
⊕ = gutes Wachstum
⊛ = sehr gutes Wachstum

Tabelle 1: Wachstum von Candida albicans

Tag	4.	5.	6.	7.	8.
Trichophyton mentagrophytes					
Perlon	(+)	(+)	⊕	⊕	⊕
Wolle-Cuprama-Perlon	0	0	(+)	⊕	+
Cuprama-Perlon	0	0	+	⊕	⊕
Dralon-Perlon	0	0	+	⊕	⊕

Tabelle 2: Wachstum von Trichophyton mentagrophytes

Tag	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.
Trichophyton rubrum							
Perlon	(+)	+	+	+	+	+	+
Wolle-Cuprama-Perlon	0	0	0	0	0	0	0
Cuprama-Perlon	(+)	(+)	+	+	+	+	+
Dralon-Perlon	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 3a: Wachstum von Trichophyton rubrum

Tag	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.
Trichophyton rubrum													
Perlon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Wolle-Cuprama-Perlon	0	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	/
Cuprama-Perlon	(+)	+	⊕	⊕	⊕	/							
Dralon-Perlon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 3b: Wachstum von Trichophyton rumbrum

Die Stoffstückchen wurden in Petrischalen gebracht — für jede Gewebsart eine gesonderte Schale —, danach gaben wir mittels einer Pipette von der Pilzsuspension soviel hinzu, daß die Stoffproben von der Flüssigkeit gut bedeckt waren. Das Gewebe wurde bis zum völligen Eintrocknen der Flüssigkeit in den Schalen belassen, was im Druchschnitt nach 2 Tagen erfolgt war. Danach zerkleinerten wir die infizierten Gewebsproben in ca. 10 qmm große Stückchen, um bei der Verimpfung eine möglichst große Ausbeute zu erreichen. Für jeden Pilzstamm und jede Gewebsart setzten wir 7 Kulturröhrchen an, d. h. für eine Versuchsreihe 84 Nährböden.

Bevor das infizierte Gewebe auf die Nährböden gebracht wurde, entnahmen wir einzelne Proben zur mikroskopischen Untersuchung im Nativpräparat, wobei sich vereinzelt Sporen bzw. Mycel auf und zwischen den Fasern feststellen ließ.
Vorstehende Tabellen bringen die Ergebnisse des Versuchs. Bei allen Gewebsarten wuchsen die Candida albicans und das Trichophyton mentagrophytes in kurzer Zeit gut an, das Trichophyton rubrum dagegen weniger zuverlässig. Den Versuch für letzteres wiederholten wir deshalb. Bemerkenswert ist, daß bei beiden Versuchen das Trichophyton rubrum aus dem Dralon-Perlon-Gewebe nicht

angezüchtet werden konnte. Auch wuchs die Candida albicans bei dieser Gewebsart auffällig schwach an. Mit der Einfärbung des Materials kann dies nicht zusammenhängen, da wir verschiedenfarbige Dralon-Perlon-Strümpfe verwandten. Der erste Versuch zeigte also, daß sich die von uns benutzten Strumpfgewebsproben mit hautpathogenen Pilzen infizieren lassen und den Pilz auch infektionsfähig halten. Eine gewisse Einschränkung müssen wir lediglich beim Dralon-Perlongewirk für das Trichophyton rubrum machen.

Versuch 2 (Waschversuch)

Hier sollte geprüft werden, ob durch den haushaltsüblichen Waschprozeß mit einem der gebräuchlichen modernen Waschmittel ein desinfizierender Effekt bei den wie in Versuch 1 mykotisch infizierten Chemiefaserstrumpfgeweben erzielt werden kann.

Wir stellten uns für diesen Zweck eine gut schäumende Waschlauge aus Perwoll — einem modernen Feinwaschmittel — her, in welcher das infizierte Gewirk in kleinen Kummen mit sterilen Kunststoffpinzetten zwei bis drei Minuten geschwenkt wurde. Zur Nachahmung des im Haushalt üblichen Waschvorganges wurden die Stoffstückchen danach mit Pinzetten gut ausgedrückt und jeweils nacheinander in drei Kummen mit Leitungswasser zum Spülen gegeben, stets unter gutem Herumschwenken. Nach Ausdrücken des Spülwassers wurden die Stoffstückchen in sterilen Petrischalen getrocknet und am dritten Tag auf die Nährböden gebracht. Das in der letzten Kumme befindliche Spülwasser verimpften wir ebenfalls. Wir setzten den Waschversuch in 5 Serien mit insgesamt 420 Nährböden an. In jeder Serie beimpften wir wiederum für jeden Pilzstamm und jede Gewebsart sieben Röhrchen. Für die 5. Serie wurde das Strumpfgewirk mit einer dreifach stärkeren Kulturmenge infiziert (3 Ösen Candida albicans, 6 Ösen Trichophyta mentagrophytes und — rubrum), um den Einfluß einer massiven Infektion auszutesten. Die Ergebnisse dieses Waschversuches sind in den Tabellen 4a—8c festgelegt.

Versuch 2 = Waschversuch

1. Serie

Tag	3. 4. 5. 6. 7. 8.
Candida albicans	
Perlon	+ + + + + +
Wolle-Cuprama-Perlon	+ + + + + +
Cuprama-Perlon	+ + + + + +
Dralon-Perlon	0 (+) (+) (+) (+) (+)

Tabelle 4a: Wachstum von Candida albicans

Tag	4. 5. 6. 7. 8. 9 10.
Trichophyton mentagrophytes	
Perlon	0 0 0 0 + + +
Wolle-Cuprama-Perlon	0 (+) + + + + +
Cuprama-Perlon	0 0 + + + + +
Dralon-Perlon	0 0 0 0 (+) (+) +

Tabelle 4b: Wachstum von Trichophyton mentagrophytes

Tag	3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18.
Trichophyton rubrum	
Perlon	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 + + + + /
Wolle-Cuprama-Perlon	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 (+) + + + /
Cuprama-Perlon	0 0 0 (+) (+) (+) (+) (+) (+) (+) + + + + /
Dralon-Perlon	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

Tabelle 4c: Wachstum von Trichophyton rubrum

2. Serie

Tag	5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18. 19. 20. 21. 22. 23. 24
Candida albicans	
Perlon	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Wolle-Cuprama-Perlon	0 0 (+) (+) + + + + + + + + + + + + + +
Cuprama-Perlon	+ + + /
Dralon-Perlon	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

Tabelle 5a: Wachstum von Candida albicans

Tag	5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18. 19. 20. 21. 22. 23. 24.
Trichophyton mentagrophytes	
Perlon	+ + + /
Wolle-Cuprama-Perlon	+ + + /
Cuprama-Perlon	+ + + /
Dralon-Perlon	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

Tabelle 5b: Wachstum von Trichophyton mentagrophytes

Tag	5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18. 19. 20. 21. 22. 23. 24.
Trichophyton rubrum	
Perlon	0 0 0 0 (+) + + + + + + /
Wolle-Cuprama-Perlon	0 0 0 0 + + + + + + /
Cuprama-Perlon	0 0 0 0 (+) + + + + + /
Dralon-Perlon	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

Tabelle 5c: Wachstum von Trichophyton rubrum

3. Serie

Tag	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.
Candida albicans																	
Perlon	0	+	+	+	+	+	+	+	+	/							
Wolle-Cuprama-Perlon	+	+	+	+	+	+	+	+	+								
Cuprama-Perlon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dralon-Perlon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 6a: Wachstum von Candida albicans

Tag	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.
Trichophyton mentagrophytes																	
Perlon	0	+	+	+	/												
Wolle-Cuprama-Perlon	0	+	+	+	/												
Cuprama-Perlon	0	+	+	/													
Dralon-Perlon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 6b: Wachstum von Trichophyton mentagrophytes

Tag	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.
Trichophyton rubrum																	
Perlon																	
Wolle-Cuprama-Perlon	Kein Pilzwachstum																
Cuprama-Perlon																	
Dralon-Perlon																	

Tabelle 6c: Wachstum von Trichophyton rubrum

1. Serie

Tag	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.
Candida albicans													
Perlon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Wolle-Cuprama-Perlon	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/
Cuprama-Perlon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/
Dralon-Perlon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 7a: Wachstum von Candida albicans

Tag	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.
Trichophyton mentagrophytes													
Perlon	(+)	+	+	+	+	+	+	/					
Wolle-Cuprama-Perlon	0	0	+	+	+	+	+	/					
Cuprama-Perlon	(+)	+	+	+	+	+	/						
Dralon-Perlon	0	0	0	(+)	+	+	+	+	+	+	+	/	

Tabelle 7b: Wachstum von Trichophyton mentagrophytes

Tag	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.
Trichophyton rubrum													
Perlon	0	0	(+)	+	+	+	+	+	/				
Wolle-Cuprama-Perlon	0	0	0	0	0	0	+	+	/				
Cuprama-Perlon	0	0	0	+	+	+	+	/					
Dralon-Perlon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 7c. Wachstum von Trichophyton rubrum

5. Serie

Tag	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.
Candida albicans															
Perlon	+	+	/												
Wolle-Cuprama-Perlon	+	/													
Cuprama-Perlon	+	/													
Dralon-Perlon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	/

Tabelle 8a: Wachstum von Candida albicans

Tag	6.	7.	8.	9.
Trichophyton mentagrophytes				
Perlon	+	/		
Wolle-Cuprama-Perlon	(+)	+	+	/
Cuprama-Perlon	+	/		
Dralon-Perlon	0	+	+	/

Tabelle 8b: Wachstum von Trichophyton mentagrophytes

Tag.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.
Trichophyton rubrum															
Perlon	0	+	+	/											
Wolle-Cuprama-Perlon	0	0	+	+	/										
Cuprama-Perlon	0	0	+	+	/										
Dralon-Perlon	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/

Tabelle 8c: Wachstum von Trichophyton rubrum

Tabelle 9: Zusammenfassung des klinischen Versuches

20 Patienten mit Dermato- und Onychomykose der Füße		in der Kultur (Nagel- und Hautgewebe) wurde nachgewiesen	verwandtes Strumpfmaterial	Direkt-Versuch	Desinfektionsversuch	Waschversuch	Spülwasser (Desinfektionsversuch)	Spülwasser (Waschversuch)
1 Fr	♀	Trichophyt. rubr.	Perlon	Trichophyt. rubr	0	/	0	·/.
2 Schn.	♀	0	"	Trichophyt. menta.	0	/	0	·/.
3 El	♂	·/.	"	"	0	·/.	0	·/.
4 Li.	♀	Trichophyt. rubr.	"	Trichophyt. rubr.	0	·/.	0	·/.
5 Fri.	♀	·/	"	Trichophyt. menta.	0	·/.	0	·/.
6 Gre.	♂	Trichophyt. rubr.	"	Trichophyt. rubr.	0	·/.	0	·/.
7 Schu.	♂	0	"	"	0	Trichophyt. rubr.	0	0
8 Lei.	♀	Trichophyt. rubr.	Wolle-Cuprama-Perlon	"	0	/	0	/
9 Za.	♀	·/.	"	"	0	Trichophyt. rubr.	0	0
10 Hi.	♀	Trichophyt. rubr.	"	"	0	"	0	0
11 We.	♀	0 0	Cuprama-Perlon	0	0	/	0	
12 Th.	♀	·/	"	Trichophyt. menta.	0	·/	0	·/
13 Pa.	♀	·/.	"	"	0	·/	0	·/
14 Me.	♀	Trichophyt. rubr	"	Trichophyt. rubr.	0	·/	0	·/
15 Kre.	♀	"	"	"	0	0	0	0
16 Re.	♀	"	"	0	0	0	0	0
17 Hö.	♀	"	"	0	0	0	0	0
18 Na.	♂	·/	Dralon-Perlon	0	0	·/	0	·/
19 Kri.	♀	Trichophyt. rubr	"	0	0	0	0	0
20 Schl.	♂	"	"	Trichophyt. rubr	0	Trichophyt. rubr.	0	0

0 = Kein Pilzwachstum ·/. = Untersuchung nicht durchgeführt

Wir fanden demnach für chemiefaserhaltiges Strumpfgewirk die von Pfister gemachten Erfahrungen bestätigt, wonach der haushaltsübliche Waschprozeß pilzverseuchtes Strumpfgewebe nicht desinfizieren kann. An dieser Feststellung ändert im Grundsätzlichen die Tatsache nichts, daß wir gelegentlich in den Serien keine kulturelle Ausbeute hatten. Hervorgehoben zu werden verdient auch hier, daß beim Dralon-Perlon-Gewirk kein Anwachsen erfolgte.
Auch aus dem Spülwasser konnten Pilze angezüchtet werden mit Ausnahme des Trichophyton rubrum.
Versuch 3 = Desinfektionsversuch
Nunmehr war zu prüfen, ob das Präparat „BAYER 4169" mykotisch infiziertes, chemiefaserhaltiges Strumpfgewebe zuverlässig desinfiziert.
Wir setzen auch diesen Versuch in 5 Serien an. Das Strumpfmaterial infizierten wir für die ersten drei Serien wie bei Versuch 1 und 2, für Serie 4 nahmen wir die doppelte, für Serie 5 die dreifache Kulturmenge, um das Desinfektionsmittel gegenüber einer massiven Infektion auszutesten.
2 Tage nach der Infektion wurde das getrocknete Strumpfgewirk für 10 Stunden in 1 ‰ Lösung von „BAYER 4169" gegeben, sodann zur Spülung nacheinander in 3 Kummen mit frischem Leitungswasser eingebracht, schließlich zum Trocknen in sterile Petrischalen gelegt und danach in üblicher Weise verimpft. Das Spülwasser aus der dritten Kumme brachten wir ebenfalls auf Nährböden.
Alle 5 Serien des Desinfektionsversuches — insgesamt wiederum 420 Kulturröhrchen — zeigten in vierwöchiger Beobachtung kein Wachstum hautpathogener

Pilzstämme. Wenig Schimmelbildung und Bakterienwachstum wurde gelegentlich beobachtet.

Die mit Spülwasser versetzten Nährböden blieben ebenfalls ohne Pilzwachstum.

Versuch 4 = Klinischer Desinfektionsversuch

Nunmehr war nachzuprüfen, in welchem Umfang bei Patienten mit Fußmykosen in getragenen Strümpfen aus Kunststoffasern ein Pilzbefund nachweisbar ist, und ob auch hierbei das BAYER-Präparat eine zuverlässige Strumpfdesinfektion gewährleistet. 20 Versuchspersonen bekamen zunächst für 2 Tage, in denen sie ohne antimykotische Behandlung und auch ohne Schutzverband blieben, ein Paar fabrikneuer Strümpfe zum Tragen. Sieben Patienten erhielten Perlon-, drei Patienten Wolle-Cuprama-Perlon-, sieben Kranke Cuprama-Perlon- und drei weitere Dralon-Perlon-Strümpfe. Die Patienten waren angehalten, die Strümpfe auch nachts zu tragen und dieselben nicht zu reinigen oder zu waschen. Sodann wurden die Strümpfe gleichen Untersuchungen wie bei den vorbeschriebenen Versuchsreihen unterzogen.

Wir verwandten hierzu lediglich die Strumpfspitze in der Annahme, daß hier der intensivste Kontakt mit der erkrankten Interdigitalhaut, bzw. den erkrankten Zehennägeln erfolgt war. Wir schnitten das Strumpfgehebe in kleine Stücke von ca. 4—5 mm Kantenlänge. Nun wurde das Material geteilt. Die eine nochmals zerkleinerte Hälfte verimpften wir in üblicher Weise, um festzustellen, ob eine Infektion des Strumpfgewebes stattgefunden hatte. Die andere Hälfte des Materials kam in den Desinfektionsversuch (siehe Versuch 3). Bei 8 Patienten spalteten wir außerdem Untersuchungsmaterial für den Waschversuch (siehe Versuch 2) ab.

Sowohl beim Desinfektionsversuch als auch beim Waschversuch wurden außerdem Proben des Spülwassers aus der 3. Kumme verimpft, wobei wir uns bei den 6 letzten Patienten eines Anreicherungsverfahrens bedienten. Wir verwandten hierzu ein Filtergerät der Membranfiltergesellschaft Göttingen „Modell Steffi 4" mit Spezialmembranfilter „Co 5" in 40 mm ⌀.

Das gesamte Spülwasser der Kumme 3 wurde durch das Filtergerät geschickt, der Membranfilter danach zerkleinert und verimpft.

Die Erfahrungen des klinischen Versuchs sind in Tabelle 9 zusammengefaßt.

Bei sämtlichen 20 Patienten war die Fußmykose zu Versuchsbeginn mikroskopisch bestätigt worden. In 14 Fällen hatten wir Haut- bzw. Nagelproben außerdem auf Nährboden gebracht und daraus in 11 Fällen das Trichophyton rubrum angezüchtet. Die direkte Verimpfung des vorher getragenen Strumpfwerkes erbrachte in 10 Fällen den Nachweis des Trichophyton rubrum, in 5 Fällen des Trichophyton mentagrophytes. Die Kulturen beim Desinfektionsversuch zeigten sämtlich keinen Pilzbefall. Pilzfrei blieben ferner auch die Kulturen des Spülwassers beim Desinfektions- und Waschversuch, bei letzterem auch trotz vorheriger Anreicherung des Impfmaterials durch das Membranfiltergerät.

In dem bei 8 Patienten durchgeführten Waschversuch wuchs in 4 Fällen das Trichophyton rubrum an.

Wir beobachteten und verimpften die Kulturen bei dem klinischen Versuch bis zu einem halben Jahr, um den betreffenden Pilzstamm mit Sicherheit differenzieren zu können.

Der klinische Versuch zeigte uns also, daß chemiefaserhaltiges Strumpfgewebe bei Fußmykosen als Pilzreservoir und Reinfektionsquelle in Frage kommt.

Der gegenüber den Untersuchungen von Fischer sowie Polemann hohe Prozentsatz von Pilzbefall war für uns dabei besonders eindrucksvoll und unterstrich die Notwendigkeit entsprechender Desinfektionsmaßnahmen. Die haushaltsüblichen Waschungen erwiesen sich als unzureichend, das BAYER-Präparat dagegen als voll wirksam.

Bei dem klinischen Desinfektionsversuch verimpften wir einen Teil des Strumpfmaterials auf Dextrose-Agar mit den oben genannten Zusätzen, den anderen Teil auf einen solchen ohne Zusätze, ohne dabei Unterschiede zu sehen.

Diskussion

Wenn wir unsere Versuchsreihen überblicken, so konnte zunächst nachgewiesen werden, daß bei einem mit hautpathogenen Pilzen — Candida albicans, Trichophyton mentagrophytes und rubrum — infizierten Strumpfgewirk aus Chemiefaserstoffen ein Angehen der Pilzkuren beobachtet wird.

Da aus der 2. Versuchsreihe hervorgeht, daß durch einen normalen Waschprozeß mit einem modernen Feinwaschmittel, wie es in Haushaltungen üblich ist, eine Desinfektion nicht gewährleistet ist, wandten wir unser Augenmerk auf ein von den Bayer-Werken zur Einführung beabsichtiges Desinfektionsmittel.

Bei dem darauf angestellten Desinfektionsversuch konnte ein Pilzwachstum bei einem mit steigenden Kulturmengen infizierten Chemiefasergewirk auch nach 4wöchiger Beobachtung nie gefunden werden.

Die Handhabung dieses Desinfektionsmittels ist technisch einfach und praktisch gut durchführbar. Eine schädigende Wirkung auf das aus Chemiefaserstoffen hergestellte Strumpfgewirk konnte von uns nicht festgestellt werden. Die Hautverträglichkeit des Mittels in 0,1—1‰igen Lösungen kann auf Grund von Hauttestungen, die von den Bayer-Werken durchgeführt wurden, als einwandfrei gelten.

In unserem 4., dem klinischen Versuch ließ sich zeigen, daß in einem wesentlich höheren Prozentsatz, als er von Fischer sowie Polemann gefunden wurde, pathogene Pilzstämme in Strümpfen von Kranken mit Fußmykosen nachgewiesen werden können.

Fischer verwendete einen Maltose-Pepton-Agar, dem zur Hemmung von Bakterien und Schimmelpilzen Kaliumtellurit zugesetzt war. Polemann arbeitete mit einem Glucose-Pepton-Agar, dem — wie bei unseren Versuchen — Penicillin, Streptomycin und Cycloheximid zugesetzt war.

Diese Tatsache unterstreicht die Notwendigkeit einer laufenden Desinfektion der Strumpfbekleidung, um damit einen bedeutsamen Reinfektionsfaktor auszuschließen.

Da wir zeigen konnten, daß eine solche Desinfektion sich leicht mit einer 1‰igen Lösung des Bayer-Präparates innerhalb von 10 Stunden durchführen läßt, würde es sich empfehlen, daß Kranke mit Fußmykosen ihre tagsüber getragenen Strümpfe nachts in die Desinfektionslösung einlegen.

Bezüglich der optimalen Konzentration und Einwirkungszeit läßt sich auf Grund unserer Untersuchungen keine endgültige Aussage machen. Es muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, ob bei höherer Konzentration eventuell kürzere Einwirkungszeit ausreichen würde.

Auf jeden Fall ist schon mit unserem Vorgehen (1‰ige Lösung für 10 Stunden) ein praktisch verwertbarer Weg aufgezeigt.

Zusammenfassung

Nach einleitender Darstellung der Verbreitung, sowie der sozialmedizinischen und klinischen Bedeutung der Haut-, insbesondere der Fußpilzinfektionen wird auf die Notwendigkeit laufender Desinfektionsmaßnahmen im Rahmen der Behandlung von Hautpilzerkrankten hingewiesen.

Untersucht wurde sodann im experimentellem Teil der Arbeit, inwieweit chemiefaserhaltige Strumpfbekleidung als bedeutsame Reinfektionsquelle in Frage kommt.

Ferner wurde geprüft, ob der haushaltsübliche Waschprozeß in diesen Fällen zur Desinfektion ausreicht und sofern dies nicht zutraf, ob das Präparat „Bayer 4169" eine zuverlässige und technisch gut durchführbare Desinfektion gewährleistet. Zunächst wiesen wir nach, daß ein mit hautpathogenen Pilzstämmen (Candida albicans, Trichophyton mentagrophytes und — rubrum) infiziertes Strumpfgewirk aus Perlon, Wolle-Cuprama-Perlon, Cuprama-Perlon und Dralon-Perlon bei Verimpfen auf Nährböden ein Angehen der Kulturen zeigte. Durch Waschen des infizierten Strumpfmaterials wurde das Pilzwachstum nicht beeinflußt. Bei Verwendung des Präparates „Bayer 4169" sahen wir dagegen in vierwöchiger Beobachtungszeit der Nährböden kein Angehen von Pilzkulturen.

Die Untersuchung der zwei Tage lang getragenen Strümpfe von 20 an einer Dermato- und Onychomykose der Füße erkrankten Patienten erbrachte in 15 Fällen einen positiven Pilznachweis. Damit ist festgelegt, daß bei Fußmykosen die Strümpfe als Reinfektionsquellen bedeutsam sind. Auch in diesem praktisch-klinischen Versuch erwies sich der haushaltübliche Waschvorgang für die Desinfektion als unzureichend, während mit dem Bayer-Präparat wiederum eine zuverlässige Desinfektion erzielt werden konnte.

Die Möglichkeit der Strumpfentkeimung mit einer 1‰igen Lösung in zehnstündiger Einwirkungszeit wurde als praktisch brauchbare Lösung angesehen.

Literatur

Aichinger, F.: Berufsdermatosen 5, 296—301 (1957). — Arnold, R.: Zbl. Arbeitsmed. u. Arbeitsschutz 7, 212—213 (1957). — Espelage, S.: Münch. med. Wschr. 1954, 946—947. — Fischer, E.: Dermatologica (Basel) 103, 97—107 (1951). — Fischer, G. W.: Hautarzt 3, 549—551 (1952). — Götz, H.: Arch. f. Dermat. 195, 1 (1952). — Götz, H.: Zschr. Haut-Geschlkrkh. 8, 5—14 (1950). — Götz, H.: Hautarzt 4. Jg. 97 (1953). — Grimmer, H.: Arch. Dermat. Syph. (Berlin) 198, 363 (1954). — Grimmer, H.: Dtsch. med. Wschr. 82, 1699. — Hansen, P. u. Rieth, H.: Berufsdermatosen 5, 244—255 (1957). — Jentsch, M.: Dermat. Wschr. 121, 601 (1950). — Langer, E. und Grimmer, H.: Münch. med. Wschr. 98, 1186—1188 (1956). — Langer, H.: Arch. Dermat. Syph. (Berlin) 204, 624—636 (1957). — Memmesheimer, A.: Arch. Dermat. Syph. (Berlin) 187, 134 (1949). — Memmesheimer, A.: Hautarzt 2, 165 (1951). — Memmesheimer, A.: Arch. Dermat. Syph. (Berlin) 189, 261 (1949). — Pfister, R.: Zschr. Haut-Geschlkrkh. 20, 259—264 (1956). — Polemann, G.: Arch. klin. exper. Dermat. 201, 24—35 (1955). — Polemann, G.: Therapiewoche 5, 536—538 (1955). — Polemann, G.: Deutsch. med. Wschr. 82, Jg., Nu. 44, 1870 (1957). — Scheffler, H. S. F.: Mykosen 1, 102—109 (1958). — Schirren, C. u. Rieht, H. u. Pingel, J. Chr. u. Hansen, P.: Arch. Hyg. Bakteriol. 140, 423 (1956). — Stegner, A.: Zbl. Arbeitsmed. u. Arbeitsschutz 7, 117—118 (1957). — Traub, E. T. u. Schultheiss, D.: Arch. of Dermat. 60, 272—276. — Wilde, H.: Hautarzt 6, 116—118 (1955). — Wilde, H.: Zschr. Haut-Geschlkrkh. 10, 99—103 (1951).

BEI DERMATOMYKOSEN · BERUFSDERMATOSEN · EKZEMEN

BENZODERM®

LÖSUNG
PUDER
SALBE
SEIFE

ARZNEIMITTELFABRIK HÜLS · DR. ALBIN HENSE · HÜLS-KREFELD

Buchbesprechung

Marshall J. Fiese, M. D., Universität Stanford, Kalifornien:

Coccidioidmycosis.

Verlag Charles C. Thomas, Springfield, USA, 1958. 253 Seiten.

Die Coccidioidmykose ist in dieser Monographie umfassend und lückenlos beschrieben worden. Als Bewohner des wichtigsten Endemiegebietes der Coccidioidmykose hat der Verfasser persönliche Erfahrungen zu dem relativ seltenen Krankheitsbild hinzufügen können, so daß nicht nur eine ausgezeichnete wissenschaftliche Zusammenstellung der Kenntnisse über das historische, mykologische, pathologische und klinische Wissen hier vorliegt, sondern eine eindrucksvolle und souveräne Beschreibung dieser Pilzinfektion entstanden ist.

Abgesehen von guten Einzelarbeiten gibt es bisher kein anderes ähnliches modernes Nachschlagewerk, weshalb das vorliegende Buch eine bestehende Lücke schließt, zumal seit dem 2. Weltkieg durch den Anstieg des Reiseverkehrs die bisher auf bestimmte Endemiegebiete begrenzte Infektion in ganz Amerika und anderen Kontinenten sporadisch zur Beobachtung gelangt ist.

Für den Kliniker sind die verschiedenartigen Krankheitsbilder und Therapiemöglichkeiten beschrieben, für den Mykologen interessiert das Wissen um den Erreger, sein ökologisches Verhalten sowie geographische Verteilung und morphologische Charakteristika, für den technischen Assistenten sind die Untersuchungsmethoden wichtig und für den Medizinhistoriker ist die außergewöhnlich gute Bearbeitung aller historischen Daten bei der Erforschung dieser Krankheit besonders wertvoll.

Allen denen, die die englische Sprache beherrschen und sich mit der Coccidioidmykose zu beschäftigen haben, wird dieses Buch ein unentbehrlicher Helfer sein.

Kaden, Berlin

Auch bei **MYKOSEN.....**

Medice

DERMAETHYL-TEERSPRAY

MEDICE CHEM.-PHARM. FABRIK GMBH. · ISERLOHN/WESTF

Kozinn, Ph. G., Burchall, J. J., Taschdjian, C. L., Wiener, H. und Numerof, P.
(Dep. of Ped., Maimonides Hospital, Brooklyn, N. Y.)
A. M. A. Journal of Diseases of Childr. **98**, 765—767 (1959)

Preparation of P^{32}-Labeled Candida albicans.
Markierung von C. albicans mit P^{32}.
Gewaschene *C. albicans*-Zellen wurden in Sabouraud-Bouillon gezüchtet, die $NaH_2P^{32}O_4$ und $Na_2HP^{32}O_4$ mit einer Radioaktivität von 10 μc/ml Kulturmedium enthielt. Nach 48 Std. Wachstum werden die Zellen mehrfach gründlich gewaschen und dann in 6 Passagen auf normaler Sabouraud-Boullion weitergeführt. Die Radioaktivität wurde mit einem „Gas-flow"-Zählgerät gemessen. Außerdem wurden Autoradiogramme nach dem Verfahren von Messier und Leblond hergestellt. Die radioaktiven Keime zeigten keine morphologischen, kulturellen oder biologischen Unterschiede gegenüber den nicht radioaktiven Zellen und waren für Mäuse in gleicher Weise pathogen. Die Radioaktivität nahm in den ersten 4 Passagen (120 Generationen) in P^{23}-freiem Medium ständig ab und war von der 5. Passage ab nicht mehr nachweisbar.
Seeliger, Bonn

Kozinn, Ph. J., Taschdjian, C. L., Burchall, J. J. und Wiener, H.
(Dep. of Ped., Maimonides Hospital, Brooklyn, N. Y.)

Transmission of P^{23}-Labeled Candida albicans to Newborn Mice at Birth.
A. M. A. Journal of Diseases of Childr. **99**, 31—34 (1960)
(Übertragung von P^{32}-markierter C. albicans auf neugeborene Mäuse während der Geburt.)

Nach wiederholter Vaginalinfektion trächtiger Mäuse mit C. albicans (radioaktiver Stamm) wurden Soorpilze bei 39 von 57 neugeborenen Mäusen (insgesamt neun Würfe) nachgewiesen. Der radioaktive, zur vaginalen Infektion benutzte C. albicans-Stamm wurde bei 8 Kulturen wiedergefunden.
Seeliger, Bonn

Emmanouilidou — Arseni, A., Sultani, D. & Kaitazi, H.
(Children's Hospital Saint-Sophia, Athen)
(Acta Microbiologica Hellenica, 6, 219 [1960].)
English Summary

The antibacterial action of Candida against Bacillus subtilis.
(Die antibakterielle Wirkung von Candida albicans auf Bacillus subtilis.)

Bei der Prüfung von 149 *C. albicans*-Stämmen und 20 anderen Sproßpilzstämmen gegen *Bacillus subtilis* wurde gefunden, daß 138 *C. albicans*- und 6 weitere Sproßpilzkulturen eine deutliche Hemmwirkung gegen Heubazillen entfalten. In Agarplatten zeigte sich um die *C. albicans*-Kolonien eine Hemmzone, und im klaren Überstand flüssiger Soorpilzkulturen erfolgte kein Wachstum von *B. subtilis*.
Seeliger, Bonn

Baylet, J., Camain, R., et Segretain, G.
(Institut Pasteur, Dakar und Paris)
Bull. Soc. Path. exot. **52**, 448—477 (1959)

Identification des Agents des Maduromycoses du Sénégal et de la Mauritanie. Description d'une Espèce nouvelle.
(Identifizierung der Maduromykose-Erreger in Senegal und Mauretanien mit Beschreibung einer neuen Art.)

Seit Januar 1957 wurden 39 Myzetome festgestellt, von denen 13 durch Aktinomyzeten und 26 durch echte Pilze verursacht waren. Schwarze Drusen fanden sich bei 13 Infektionen durch *Madurella mycetomi*, bei einer Infektion durch *Curvularia lunata* und bei 8 Infektionen durch die neue Art *Leptosphaeria senegalensis*. 4 Fälle mit weißen bzw. rosafarbenen Drusen blieben aetiologisch ungeklärt. Bei den aktinomykotischen Myzetomen wurden als Erreger *Streptomyces madurae, Streptomyces pelletieri, Streptomyces somaliensis* und eine fragliche *Nocardia asteriodes* nachgewiesen. Die schwarzen und von einer 30—60μ dicken, bräunlichen Randzone umgebenen Drusen der neuen Art *Leptosphaeria senegalensis* sind stets blasig, haben einen

Durchmesser von 0,7—0,9 mm und sind meist in Gruppen von 2—3 im Zentrum der Abszesse zu finden. Sie bestehen aus verflochtenen septierten Myzelien von verschiedenem Durchmesser (2—5μ).

Auf Dextrose Sabouraud-Agar überziehen sich die Drusen bei 37 °C mit einem weißen samtartigen Belag; am 10. Tag haben die Kolonien meist einen Durchmesser von 12 mm, ihre Färbung variiert von weiß, gräulich bis bräunlich; die Rückseite ist schwarz. Asexuelle Sporulation wurde nicht festgestellt. In 2—5 Monaten bildeten sich auf den fast ausgetrockneten Kulturen runde, schwarze geschlossene Perithecien, die Asken von 500—100μ Länge und 12—22μ Breite enthielten; im Innern fanden sich 7—8 längliche ovale Askosporen. Jede Askospore ist durch 4 Transversalsepten in 5 Zellen unterteielt Der Pilz gehört innerhalb der *Pyrenomyzetes* zu den *Sphaeriales* und zur Familie der *Plaeosporeaceae*. Auf Grund seiner Eigenschaften wird er zur Gattung *Leptosphaeria* gerechnet und als neue Art angesehen.

Seeliger, Bonn

Cotton, R. E. & Lloyd, H. E. D.

The Bland-Sutton Institute of Pathology, Middlesex Hospital, London.

Lipid pneumonia and infection with Nocardia asteroides complicating Achalasia of the Cardia.

(Lipoidpneumonie und Infektion mit Nocardia asteroides als Komplikation einer Cardia-Achalasie.)

J. Path. Bact. **79**, 251—256 (1960)

Die Assoziation pulmonaler Erkrankungen mit Cardia-Achalasie und anderen Prozessen, die Schluckstörungen verursachen, wurde relativ häufig beschrieben. Bei einer 49jährigen Frau, deren Cardia-Achalasie vor 26 Jahren erkannt worden war, wurden im Dezember 1955 eine linksseitige Lungenkaverne und rechtsseitig Verschattungen mit beginnender Verkalkung festgestellt. Im Sputum fand sich reichlich *Nocardia asteroides* (bis zu 10 Keimen im Gesichtsfeld unter Öl). Der Tod erfolgte ein Jahr später im Anschluß an eine Operation durch Embolie der rechten Pulmonalarterie.

Die Autopsie offenbarte ein massives Ölgranulom, verursacht durch flüssiges Paraffin und sekundären Befall der linken Lunge mit Nocardia asteroides. Es handelt sich hierbei um den 3. Fall einer Nocardiose in England. Seeliger, Bonn

Tagesnotizen

Der Arbeitsausschuß Medizin der Deutschen Gesellschaft für Dokumentation führt am **20. u. 21. Oktober 1960** in der Med. Univ.-Poliklinik Würzburg seine 7. öffentliche Arbeitstagung durch. Behandelt werden u. a.: Vorteile einer klinischen Dokumentation für Forschung und Lehre / Der dokumentationsgerechte Krankenblattkopf / Literaturdokumentation für den Einzelforscher / Probleme und Technik von Umfragen unter besonderer Berücksichtigung der Medizin / Über das Testen der Zuverlässigkeit von Labormethoden / Grundbegriffe der medizinischen Kommunikation / Aufbau und Arbeitsweise elektronischer Rechenmaschinen / Elektronenrechner in der Medizin / Methoden zur Erfassung des Krankheitsverlaufes durch Lochkarten / Erfahrungen bei der Verschlüsselung der versorgungsärztlichen Statistik.

Am 21. 10. 1960 tagen u. a. die Arbeitskreise: Innere Medizin, Chirurgie und HNO-Krankheiten. Näheres: Dr. O. Nacke, Bielefeld, Stapenhorststr. 62, Ruf: 501.

Verlag: Berliner Medizinische Verlagsanstalt Grosse, Berlin-Lichterfelde, Baseler Str. 67, Telefon: 73 50 13. Verantwortlich für die Schriftleitung: Prof. Dr. med. H. Grimmer, Berlin N 65, Augustenburger Platz 1, Telefon: 46 41 91. Verantwortlich für den Anzeigenteil: J. Karuth, Berlin-Lichterfelde, Baseler Str. 67, Telefon: 73 50 13. Druck Max Schönherr, Berlin N 65, Müllerstr. 10-11

BEI DERMATOMYKOSEN · BERUFSDERMATOSEN · EKZEMEN
BENZODERM®
LÖSUNG
PUDER
SALBE
SEIFE
ARZNEIMITTELFABRIK HÜLS · DR. ALBIN HENSE · HÜLS-KREFELD